



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
“NANOMEDICINAS PARA EL CÁNCER DE
MAMA”

Autor: Juana Arroyo García de Mateos

D.N.I.:70589497-J

Tutor: Ana Isabel Torres Suárez

Convocatoria: Junio

ÍNDICE

Resumen	1
1. Introducción	1
1.1. Epidemiología del cáncer de mama	2
1.2. Estadiaje del cáncer de mama	3
1.3. Subtipos moleculares	4
1.4. Tratamiento del cáncer de mama	5
1.5. Quimioterapia	6
2. Objetivos	11
3. Material y Métodos	12
4. Resultados y Discusión	13
4.1. Tipos de nanomedicinas para el tratamiento del cáncer de mama	13
4.1.1. Liposomas	13
4.1.2. Conjugados poliméricos	15
4.1.3. Micelas	15
4.1.4. Nanopartículas	15
4.2. Posibilidades de vectorización en cáncer de mama	16
4.2.1. Vectorización pasiva	16
4.2.2. Vectorización activa	18
4.3. Nanomedicinas desarrollada para el tratamiento del cáncer de mama	23
5. Conclusiones	28
6. Anexos	30
7. Bibliografía	37

RESUMEN

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más frecuente en la mujer, presentando a nivel mundial la mayor incidencia y mortalidad en las mujeres.

Los fármacos citostáticos contra el cáncer de mama presentan una falta de especificidad derivada de la extensa biodistribución y de los efectos adversos generados por la acción inespecífica de éstos en órganos sanos.

Con el objetivo de solucionar estos problemas, la nanotecnología ha desarrollado una serie de nanomedicinas que consiguen acumular específicamente la cantidad de fármaco administrado en el lugar de acción, logrando así un aumento significativo de la eficacia clínica, junto con una minimización de los problemas de solubilidad, farmacocinéticos, reacciones adversas y resistencias asociadas a los fármacos citostáticos contra el cáncer de mama.

En esta revisión sistemática, se resumen las estrategias para conseguir la orientación específica de los fármacos antitumorales contra el cáncer de mama, así como los avances más significativos en el diseño y desarrollo de nanomedicinas en sus diversas presentaciones.

Existe un amplio repertorio de estrategias para el transporte específico de antitumorales, aunque la mayoría se refieren a experiencias *in vitro* e *in vivo*. Aun así, existen también una gran variedad de nanomedicinas para el tratamiento del cáncer de mama que se encuentran en estudios de fase clínica avanzados o comercializados, consiguiéndose una mayor tasa de respuesta, supervivencia, un tiempo más largo hasta la progresión y con un perfil de seguridad mejorado.

PALABRAS CLAVE: Cáncer de mama, quimioterapia, nanomedicinas, vectorización, liposomas, nanopartículas, eficacia, seguridad.

1. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud define el cáncer como un término genérico que engloba más de 200 enfermedades caracterizadas por un crecimiento y diseminación incontrolados de células, pudiendo afectar a cualquier parte del organismo. Es resultado de una serie de interacciones entre factores genéticos propios del individuo y factores externos llamados

carcinógenos, que pueden ser de tipo físico, tales como la luz ultravioleta y la radiación ionizante, químico, como el asbesto y el humo del tabaco o biológico, infecciones causadas por virus, bacterias o parásitos ¹.

A pesar del origen monoclonal, los tumores primarios presentan un grado significativo de heterogeneidad debido a la inestabilidad genética de las células que los componen. Algunas de estas células serán capaces de inducir la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis), abandonar el tumor primario y atravesar la matriz extracelular que las rodea (invasión), alcanzar el torrente sanguíneo (intravasación), sobrevivir en el mismo y abandonarlo atravesando las paredes de los capilares localizados en lugares distantes del organismo (extravasación), invadiendo nuevamente la matriz extracelular y estableciendo en la nueva localización un tumor secundario (colonización) ².

1.1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA

Según los datos aportados por la OMS en su informe anual sobre el cáncer, en 2012 se han producido 14 millones de nuevos casos y 8,2 millones de muertes relacionadas con el cáncer. Así pues, se prevé un aumento de la incidencia de aproximadamente un 70 % en los próximos 20 años. A nivel mundial, una de cada siete muertes se debe al cáncer. Existen más muertes por cáncer que por SIDA, tuberculosis y malaria, siendo el cáncer la segunda causa de muerte en los países de alto ingreso y la tercera causa de muerte en países de bajo y medio ingreso ¹⁻³.

Uno de los tumores más frecuentes en los países desarrollados y por tanto en España es el cáncer de mama, por lo que la mejora en su tratamiento tendría una gran repercusión siendo por ello objetivo de este trabajo.

En 2012 fueron diagnosticados 1,7 millones de casos, que representan el 25% de todos los nuevos casos de cáncer en las mujeres. Un 53% de estos casos se produjo en los países en vías de desarrollo, lo que supone un 82% de la población mundial. Se estiman un total de 521 900 muertes por cáncer de mama en las mujeres en 2012. El cáncer de mama es la principal causa de muerte entre las mujeres en los países en desarrollo y la segunda causa de muerte por cáncer, después del cáncer de pulmón, entre las mujeres de los países desarrollados ⁴.

Este cáncer es más frecuente en la mujer, siendo los factores de riesgo más importantes el sexo femenino y la edad. Las mujeres presentan 100 veces más probabilidades de desarrollar un

cáncer de mama que los hombres, de manera que una de cada diez mujeres sufrirá un cáncer de mama a lo largo de su vida, mientras que tan solo 1% de los cánceres de mama se presentan en varones ⁵.

Aunque no se conoce bien el origen exacto, son varios los factores de riesgo que se relacionan con la aparición del cáncer de mama. La mayoría de los casos avanzados se producen en mujeres de más de 50 años, aumentando el riesgo linealmente con la edad. La edad de la menarquia, la edad del primer embarazo a término y la edad de la menopausia son las tres etapas en la vida de la mujer que ejercen un impacto importante en su incidencia y probablemente son las responsables del 70 -80 % de la variabilidad de su frecuencia en los diferentes países ⁵. Otros factores de riesgo son la utilización de anticonceptivos orales, el tratamiento hormonal sustitutivo, los antecedentes familiares (mutaciones en los genes BRCA1, BRCA2 y p53), la obesidad, el tratamiento con radioterapia sobre la mama en la infancia, las enfermedades benignas de la mama, la dieta hipercalórica, el consumo de alcohol y de tabaco ³.

Todos ellos parecen explicar la diferencia en la incidencia del cáncer de mama en los países desarrollados y los países en desarrollo. La OMS indica que la incidencia de cáncer de mama es baja (<20/100 000 mujeres) en las regiones sub-Saharianas, China y en el este asiático, excepto en Japón, localizándose las mayores incidencias (80-90 casos/100 000 mujeres) en América del Norte, en algunas regiones de América del Sur, en el Norte y Oeste de Europa y Australia ². Sin embargo, la mortalidad es relativamente mucho más elevada en los países pobres debido a una falta de detección temprana y a la dificultad para acceder al tratamiento; en Europa occidental, la incidencia de cáncer de mama es de unos 90 casos/100 000 mujeres al año en comparación con los 30/100 000 mujeres de África Oriental. En cambio las tasas de mortalidad por cáncer de mama en estas dos regiones son similares, 15 casos/100 000 mujeres, apuntando a lo comentado anteriormente ⁴.

1.2. ESTADIAJE DEL CÁNCER DE MAMA

El pronóstico de las pacientes con cáncer de mama depende del tamaño y extensión del tumor y de la presencia de metástasis en los ganglios linfáticos regionales o distales. Estas variables se incluyen en la clasificación TNM desarrollada por la *American Joint Committee on Cancer*

(AJCC) y la *Internacional Unión Against Cancer* (UICC) ⁶.

Tumor primario	Tx: tumor primario no puede ser evaluado
	T0: no hay evidencia de tumor primario
	Tis: carcinoma in situ
	T1-4: tamaño y/o alcance del tumor primario
Ganglios linfáticos regionales	Nx: ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados
	N0: no hay metástasis ganglionar linfática regional
	N1-3: metástasis de los ganglios linfáticos regionales (número y/o extensión)
Metástasis	Mx: metástasis a distancia no puede ser evaluada
	M0: no hay metástasis a distancia
	M1: metástasis a distancia

Tabla 1. Estadificación del cáncer según el sistema TNM de la AJCC ⁶.

Según su histología y estadio, el cáncer de mama puede dividirse en:

- Carcinoma in situ o Tis: Intraductal (carcinoma ductal DCIS, neoplasia lobular LCIS) y enfermedad de Paget. Etapa preinvasiva o estadio 0.
- Carcinoma invasivo: ductal, inflamatorio, medular, mucinoso, papilar, tubular, lobulillar. Etapa inicial (estadios I, IIA y IIB), avanzada (estadio IIB) y localmente avanzada (IIIA, IIIB, IIIC y IV).

De forma general, los tumores de mama de estadio I son pequeños, localizados y operables. En el estadio II y III se incluyen tumores invasivos operables, localmente avanzados y/o con afectación de los ganglios linfáticos regionales y/o afectación de la piel y pared torácica, y en el estadio IV se encuentran los tumores metastásicos, inoperables en la mayoría de los casos ⁷.

Una clasificación más detallada de la clasificación de la AJCC puede consultarse en el anexo A.

1.3. SUBTIPOS MOLECULARES

Se han identificado distintos subtipos moleculares en función de los perfiles de expresión génica utilizando marcadores biológicos, incluyendo la presencia o ausencia de los receptores de estrógeno (ER+ / ER-), receptores de progesterona (PR+ / PR-) y receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico (HER2+ / HER2-).

- Luminal A. Alrededor del 40% de los cánceres de mama son luminal A, por lo que es el subtipo de cáncer de mama más común. Estos tumores tienden a ser ER+ y / o PR+ y HER2-, de crecimiento lento y menos agresivos que otros subtipos. Tumores luminal A se asocian con un pronóstico más favorable a corto plazo, aunque la supervivencia a largo plazo es similar o incluso menor que otros subtipos.
- Luminal B. Aproximadamente el 10-20% de los cánceres de mama son tumores luminales B. Al igual que el anterior, la mayoría de los tumores luminal B son ER+ y/o PR+, pero se distinguen por la expresión de HER2 y altos niveles de genes de proliferación.
- De tipo basal. Alrededor del 10-20% de los cánceres de mama son de este tipo y la mayoría de los cánceres de mama basal se les conoce como "triple negativo" porque son ER-, PR-, y HER2-. Este subtipo es más común en las mujeres afroamericanas, las mujeres premenopáusicas y las personas con mutaciones BRCA1 (metilación). Tiene un peor pronóstico a corto plazo porque no existen terapias específicas para estos tumores.
- HER2 enriquecido. Alrededor del 10% de los cánceres de mama se caracterizan por un exceso de HER2 y por una ausencia de receptores hormonales. Estos cánceres tienden a crecer y propagarse más agresivamente que otros subtipos y se asocian con un peor pronóstico a corto plazo en comparación con un cáncer ER+ ⁸⁻⁹.

1.4. TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE MAMA

El tratamiento del cáncer de mama, como ocurre en la mayoría de los tumores, es multidisciplinar, depende de aspectos clínicos y patológicos del tumor, del TNM (tamaño tumoral, afectación ganglionar y presencia de metástasis), de la presencia de receptores hormonales, de la positividad para algunos factores biológicos como HER2, comorbilidad, edad y estado hormonal ¹⁰.

El tratamiento convencional del cáncer de mama en estadios iniciales (I y II) consiste en el tratamiento quirúrgico del tumor primario mediante mastéctomía o cirugía conservadora de la mama, ambas en combinación con la disección de los ganglios linfáticos axilares o la biopsia del ganglio centinela ¹⁰⁻¹¹.

El tratamiento del tumor no invasivo varía en función de que se trate de una neoplasia lobular

(LCIS) o de un carcinoma ductal (DCIS). La mayoría de los LCIS no requieren terapia local adicional tras la biopsia, aunque se recomiendan exámenes y mamografías regulares. En el segundo caso, el tratamiento consiste en cirugía conservadora (tumorectomía o cuadrantectomía) seguida de radioterapia en el tejido mamario remanente o mastectomía cuando el área con DCIS es demasiado grande o se presentan márgenes positivos tras la cirugía. Puede considerarse la cirugía conservadora sin radioterapia en mujeres con pequeñas áreas de DCIS de bajo grado y márgenes quirúrgicos negativos ¹⁰⁻¹².

El tratamiento convencional del cáncer de mama inicial, invasivo y operable consiste en el tratamiento quirúrgico del tumor primario mediante cirugía conservadora o mastectomía radical modificada, en ambos casos con disección de los ganglios linfáticos axilares o biopsia del ganglio centinela. El tratamiento adyuvante puede incluir radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal o anticuerpos monoclonales combinada con quimioterapia ¹⁰⁻¹¹⁻¹².

En el caso de tumores inoperables o inflamatorios, el tratamiento estándar es la quimioterapia neoadyuvante ya que permite reducir el estadio del tumor permitiendo su resección. Además, representa una buena alternativa en el tratamiento de tumores operables de gran tamaño ya que los reduce permitiendo la realización posterior de cirugía conservadora ¹³. Para los casos que responden a la quimioterapia, la terapia local puede ser la mastectomía total con disección de ganglios linfáticos y radioterapia dirigida a la pared torácica y a los ganglios linfáticos regionales ¹⁰.

El tratamiento del cáncer recidivante o metastásico es la terapia sistémica, que dependiendo de diversos factores puede consistir en terapia hormonal, quimioterapia, terapias dirigidas o combinación de éstas. La cirugía puede estar indicada en pacientes seleccionadas y la radioterapia se utiliza como parte integrante del tratamiento paliativo o tras la cirugía, para descomprimir metástasis intracraneales o de la médula espinal ¹⁰⁻¹¹.

1.5. QUIMIOTERAPIA EN CÁNCER DE MAMA

La quimioterapia es una de las modalidades terapéuticas más empleada en el tratamiento del cáncer. Su objetivo es destruir, empleando una gran variedad de fármacos, las células que componen el tumor con el fin de lograr la reducción o desaparición de la enfermedad. Los fármacos antineoplásicos o quimioterápicos llegan a prácticamente todos los tejidos del organismo y ahí es donde ejercen su acción, tanto sobre las células malignas como sobre las

sanas ¹².

- **TAXANOS**

En la década pasada, los taxanos, paclitaxel y docetaxel, surgieron como uno de los grupos más potentes de compuestos activos contra los tumores malignos. Los taxanos son estabilizadores de los microtúbulos. Se unen a la superficie interna de la cadena de microtúbulo β y mejoran el ensamble del microtúbulo al promover las fases de nucleación y elongación de la reacción de polimerización y al reducir la concentración crítica de la subunidad de tubulina requerida por los microtúbulos para ensamblarse. Los taxanos reducen el tiempo de retardo y trasladan de manera acentuada el equilibrio dinámico entre los dímeros de tubulina y los polímeros de los microtúbulos hacia la polimerización. El paclitaxel requiere una concentración de tubulina más alta que la del docetaxel con el fin de estabilizar los microtúbulos. La rotura de la disposición ordenada de microtúbulos no sólo detiene la progresión de la mitosis, sino que altera las vías de señalización y promueve la apoptosis. Los taxanos bloquean el efecto antiapoptótico del gen familiar bcl-2 e induce la activación del gen p53 con el consecuente paro mitótico, formación de células multinucleadas y muerte celular.

Se han caracterizado dos de los mecanismos principales a los que puede atribuirse la resistencia adquirida a los taxanos. Éstos son unos de muchos medicamentos afectados por la resistencia a múltiples fármacos (MDR), la cual está mediada a través de la expresión incrementada de la glicoproteína P de la bomba de eflujo que codifica el gen MDR1. La glicoproteína P promueve el eflujo rápido de taxanos y antraciclinas. En sistemas de pruebas en animales la resistencia MDR puede anularse por bloqueadores de los canales del calcio, tamoxifeno, hormonas, ciclosporina A e incluso por el Cremophor®, el principal lípido usado para formular paclitaxel. Una segunda forma de resistencia a los taxanos se observa en células que expresan un fenotipo alterado de la tubulina β .

Los taxanos son activos en su forma original; sus metabolitos son inactivos. La disponibilidad oral de paclitaxel y docetaxel es pobre, lo cual se debe en parte a la sobreexpresión constitutiva de la glicoproteína P y por otra a los transportadores ABC del epitelio intestinal y al metabolismo de primer paso de los taxanos en el hígado o en el intestino. Los taxanos son insolubles en agua. El paclitaxel se formula en 50% de alcohol y 50% de un derivado del aceite de castor polioxietilado (Cremophor®). El docetaxel se formula en polisorbato 80 (Tween 80), y puede administrarse después de su dilución en solución salina al 0.9% o

solución de dextrosa al 5%.

La neutropenia es la principal toxicidad de ambos taxanos. La trombocitopenia grave y la anemia son raras, excepto en los pacientes que recibieron tratamientos previos agresivos. La administración de paclitaxel causa una incidencia alta de reacciones de hipersensibilidad aguda si no se las previene con antihistamínicos y corticoesteroides; el solvente cremáforo es un importante contribuyente a que tal reacción tenga lugar. El paclitaxel también puede causar arritmias cardíacas, mialgias y neuropatía. La toxicidad de docetaxel se aproxima bastante a la de paclitaxel con varias excepciones importantes. El primero es más mielosupresivo con las dosis de uso clínico. La estomatitis es un efecto secundario más frecuente con docetaxel que con paclitaxel. Náuseas, vómitos y diarrea aparecen con ambos tratamientos, pero la toxicidad gastrointestinal grave es excepcional ¹⁴.

• ALCALOIDES DE LA VINCA

Los alcaloides de la vinca, derivados de la planta vinca rosácea, se unen a sitios comunes en la tubulina β y previenen la dimerización de las subunidades de tubulina α y β para formar microtúbulos. De esa manera bloquean a las células en mitosis debido a que les falta el aparato microtubular que se requiere para que los cromosomas se separen. A lo anterior le sigue la apoptosis.

Las resistencias a los alcaloides de la vinca presentan el mismo mecanismo que los taxanos. Estos medicamentos comparten un patrón farmacocinético de inactivación al ser metabolizados por las isoenzimas P-450 del hígado, en primer lugar de CYP3A4, y muestran una vida media larga en plasma de hasta varios días. La vincristina tiene la $t_{1/2}$ plasmática más prolongada (23 a 85 horas), mientras que la vinblastina es la que sufre la depuración más rápida ($t_{1/2}$ de 24 horas).

Todos los alcaloides de la vinca causan neurotoxicidad, en primer lugar, una neuropatía sensitiva periférica. La vincristina es el más neurotóxico, ya que puede causar disfunción motora en pacientes con toxicidad grave, y no se debe administrar a pacientes con disfunción neurológica significativa debida a otros medicamentos, diabetes, accidente vascular cerebral, o alguna enfermedad neurológica heredada. La vinblastina produce neurotoxicidad mínima. La vincristina produce efectos mínimos en la médula ósea ¹⁵.

- **CAMPTOTECINAS**

La camptotecina y sus análogos ejercen su actividad antitumoral al inhibir a la enzima topoisomerasa de DNA I, una enzima nuclear que mitiga la tensión torsional en el DNA superenrollado durante la replicación y la transcripción. Las camptotecinas estabilizan el complejo de topoisomerasa I-DNA, lo que conlleva a las roturas de la doble hebra y a la apoptosis. Como la síntesis de DNA representa un requisito para esta interacción, las camptotecinas son fármacos específicos de la fase S1.

Se han demostrado numerosos mecanismos de resistencia in vitro a las camptotecinas, como el de la bomba de eflujo de resistencia a múltiples fármacos (MDR), la glicoproteína P, redistribución celular de la topoisomerasa I fuera del nucleólo; regulación hacia abajo de la expresión de la topoisomerasa I; mutaciones en los sitios catalítico o de unión al DNA de la topoisomerasa I; regulación hacia arriba de la topoisomerasa II e inhibición de la apoptosis inducida por quimioterapia.

El irinotecán fue diseñado de manera específica para facilitar la administración de su metabolito activo, el análogo 7-etil-10-hidroxilo SN-38, el cual es 1000 veces más potente para inhibir a la topoisomerasa I que el compuesto original, irinotecán. Las carboxilesterasas hepáticas convierten de manera primaria el irinotecán en SN-38. La semivida del SN-38 es de 11.5 horas. La eliminación primaria del irinotecán tiene lugar a través del hígado por medio de dos mecanismos de relevancia clínica. En primer lugar el irinotecán es un sustrato del sistema del citocromo P-450, donde en partes lo metabolizan CYP2B6 y CYP3A4. En segundo lugar, irinotecán es convertido en su forma activa, SN-38, la cual es glucuronizada y excretada en el sistema biliar. La biodisponibilidad oral de irinotecán es sólo de 8%, pero la pequeña cantidad absorbida del medicamento se somete a una rápida conversión de primer paso a SN-38 tanto en el hígado como en el intestino.

Los efectos adversos más comunes del irinotecán son la diarrea, que en algunas circunstancias puede poner en peligro la vida, la mielosupresión y el síndrome colinérgico. El irinotecán puede inhibir la actividad de la acetilcolinesterasa, lo que conduce al síndrome colinérgico que se caracteriza por diarrea aguda, diaforesis, cólico abdominal, sialorrea, lagrimeo, rinorrea y, en ocasiones, bradicardia asintomática.

- **ANTRACICLINAS**

Los medicamentos de esta clase, derivados de caldos de cultivo del hongo *Streptomyces peucetius*, se han convertido en componentes críticos de muchos esquemas que contribuyen a la cura del cáncer de mama. El miembro que se incluye en esta familia para el tratamiento del cáncer de mama es la doxorubicina. Su configuración planar es la que le permite a las antraciclinas intercalarse entre las hebras de DNA, acción que originalmente se tomó como la determinante de su efecto inhibidor de la síntesis de DNA. No obstante, las antraciclinas tienen otras características importantes. La quinona presente en su estructura experimenta rápidos ciclos de oxidación/reducción en presencia de metales como el Fe^{+2} , tras los cuales se producen radicales libres de oxígeno, lípidos o ambos. Se cree que estos radicales libres determinan la toxicidad cardíaca inherente a esta clase de agentes. Más recientemente se ha visto que estos fármacos se unen e inhiben a la topoisomerasa II, una enzima que promueve el desenrollamiento de las hebras de DNA, un hecho esencial en la síntesis y reparación del DNA. La topoisomerasa II se une al DNA y produce una rotura de doble hebra que permite el paso de la hebra. Las antraciclinas se unen al complejo covalente DNA-topoisomerasa II para formar un complejo con la estabilidad suficiente como para prevenir el resellado de la rotura de las hebras. La acumulación de roturas en las hebras señala al sistema p53 para que detenga la progresión del ciclo celular e inicie la reparación del DNA. Si las roturas son numerosas, la célula entra en apoptosis.

Se ha observado una correlación interesante entre la amplificación de la isoenzima topoisomerasa IIa y el receptor HER2. El gen topoisomerasa IIa se localiza en el cromosoma 17 adyacente al gen que codifica para HER2. El 35% de los cánceres de mama que amplifican HER2 coamplifican topoisomerasa IIa, y pacientes con tumores que contienen topoisomerasa IIa coamplificada experimentan un beneficio mayor con terapias adyuvantes basadas en doxorubicina, al compararlos con los que expresan niveles bajos de topoisomerasa II.

En cuanto a la resistencia, los transportadores que exportan antraciclinas y otros productos naturales influyen en la respuesta a esta clase de agentes. La expresión del gen MDR, que codifica el transportador de membrana, glicoproteína P, incrementa la resistencia a las antraciclinas. Otros exportadores de membrana, como la familia MRP, y los transportadores de resistencia en el cáncer de mama, han sido reconocidos como causantes de resistencias. Niveles altos de expresión de bcl-2 vuelven a las células insensibles a las antraciclinas, así como una pérdida de la función del complejo reparador de desigualdades que reconoce pares

de hebras defectuosos. Las mutaciones en p53 también proporcionan resistencia a doxorrubicina. Existen algunas evidencias de que la reparación defectuosa de las roturas de doble hebra, como se encuentra en los pacientes con mutaciones de BRCA1 o BRCA2, incrementa la sensibilidad a las antraciclinas.

Todas las antraciclinas causan mielosupresión, mucositis y alopecia. Su más significativa toxicidad tardía es la cardíaca. La radioterapia sobre el pecho administrada junto con quimioterapia incrementa el riesgo de cardiotoxicidad. Otros medicamentos quimioterápicos potencian la cardiotoxicidad de las antraciclinas. Si se administra con doxorrubicina el paclitaxel, se reduce la tasa de depuración de ésta y aumenta significativamente la tasa de cardiotoxicidad. Cuando se administra con doxorrubicina el trastuzumab, el anticuerpo anti-HER2, se produce un incremento acentuado de la cardiotoxicidad cuando la combinación se extiende a cuatro ciclos. Además de la cardiotoxicidad, como clase, las antraciclinas incrementan el riesgo de mielodisplasia ¹⁶.

Apuntado a lo comentado anteriormente, los problemas de la quimioterapia proceden esencialmente de la relativa falta de especificidad derivada de la extensa biodistribución de los citostáticos, de las resistencias desarrolladas por las células tumorales y de los efectos adversos generados por la acción inespecífica de éstos en tejidos y órganos sanos. La necesidad de encontrar tratamientos eficaces contra el cáncer ha hecho que se incrementen las líneas de investigación de los sistemas de liberación controlada. Con el objetivo de conseguir esto, la nanotecnología ha desarrollado una serie de “nanovehículos” o “nanomedicinas” poliméricos que incrementan la biodisponibilidad del principio activo, permitiendo la administración de dosis más bajas y minimizando la aparición de efectos adversos habituales en la terapia conveccional, con el fin último de mejorar la calidad de vida del paciente, así como la supervivencia. Además, permiten controlar los parámetros farmacocinéticos y prolongar la vida media del fármaco en el organismo ¹⁷⁻¹⁸.

2. OBJETIVOS

Revisar la literatura científica con el fin de:

- Presentar las diferentes estrategias de transporte de los fármacos citostáticos utilizados para el cáncer de mama, analizando sus principios básicos y los principales resultados obtenidos hasta la fecha tanto in vitro como in vivo.
- Presentar las diferentes formulaciones terapéuticas desarrolladas hasta el momento,

analizando la eficacia/efectividad, así como la reducción de los efectos adversos del tratamiento con nanomedicinas frente al tratamiento con quimioterapia en el cáncer de mama.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para dar una respuesta a los objetivos de esta revisión sistemática se ha realizado una búsqueda bibliográfica desde febrero hasta junio de 2015 en bases de datos generales como Science Citation Index y Medline, a las que se ha accedido a través de la plataforma ISI Web of Knowledge.

Se elaboraron estrategias de búsqueda concretas, utilizando combinaciones específicas para las bases de datos, de descriptores y de términos libres para suplir las posibles deficiencias en la indexación de los artículos. Los términos principalmente utilizados fueron “chemotherapy”, “nanocarriers”, “targeting”, “breast cancer”, “nanoparticles cancer” y “nanomedicines”, utilizándose el operador booleano “and”.

La búsqueda se limitó temporalmente, seleccionando los estudios publicados a partir del año 2001 hasta la actualidad, y según el idioma, se seleccionaron publicaciones en inglés, francés y español. Otros criterios de inclusión fueron revisiones sistemáticas, meta-análisis, ensayos experimentales in vitro, ensayos clínicos en pacientes adultos con cáncer de mama y estudios que valoren la mortalidad, morbilidad o la calidad de vida en términos de supervivencia, recurrencias y toxicidad tras el tratamiento con nanomedicinas. Además, dentro de estas dos bases de datos se seleccionaron revistas con un alto factor de impacto y de reconocido valor dentro del campo de los Sistemas de Liberación Modificada de Fármacos.

Tras la lectura de los resúmenes de los artículos resultantes de la búsqueda se procedió a la selección de los estudios incluidos.

Todo este proceso se completó mediante una búsqueda general en internet en páginas de calidad (organizaciones, sociedades científicas...). De modo adicional se ha recogido información general a través de buscadores generales como el Google académico.

El resultado de todas estas búsquedas fue volcada en el gestor de referencias bibliográficas “endnote”.

4. RESULTADOS Y DISCURSIÓN

Las nanomedicinas han recibido especial atención en las últimas décadas. Se trata de partículas de tamaño comprendido entre los 10-1000 nm, aunque generalmente la nanomedicina se centra en partículas de tamaño inferior a 200 nm ¹⁹. Su gran utilidad se debe en parte a sus características. Por un lado, presentan una superficie funcional importante en relación al tamaño de partícula. A esta superficie se pueden unir o adsorber otros compuestos, como fármacos o proteínas, dotándolas de una gran versatilidad y permitiendo dirigir la acción de las nanomedicinas hacia dianas específicas tras su administración ²⁰. Además, presentan mayor superficie reactiva que el resto de sus análogos de mayor tamaño. Por otro lado, permiten la encapsulación, la unión covalente o la adsorción de los agentes terapéuticos y diagnósticos. De esta forma, se pueden superar limitaciones inherentes a las características químicas de estos agentes, como es la solubilidad, permitiendo atravesar barreras biológicas, además, de disminuir las resistencias gracias a su captación específica ¹⁷.

4.1. TIPOS DE NANOMEDICINAS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE MAMA

Existen diferentes clases de nanomedicinas utilizadas para el tratamiento del cáncer de mama, incluyendo liposomas, conjugados poliméricos, micelas y nanopartículas. Las diferentes formulaciones se discuten más adelante, con especial énfasis en los ensayos clínicos.

4.1.1. LIPOSOMAS

Los liposomas fueron descubiertos por Alec D Bangham en la década de 1960. Se tratan de estructuras vesiculares constituidas por una o más bicapas lipídicas concéntricas que encierran un número igual de compartimentos acuosos. Las primeras formulaciones se diseñaron con lípidos naturales; en la actualidad se pueden incluir lípidos (fosfolípidos como la fosfatidilcolina, fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina) y tensioactivos naturales y/o sintéticos. Tienen capacidad de atrapar agentes tanto lipófilos como hidrófilos, en la membrana lipídica y en el núcleo acuoso, respectivamente. Los liposomas utilizados en medicina tienen un tamaño de entre 50 y 450 nm. Parecen ser un nanosistema casi ideal, ya que su morfología es similar a la de las membranas celulares. En la actualidad, se considera uno de los sistemas de transportes de fármacos de mayor éxito.

Los liposomas se componen principalmente de fosfolípidos, moléculas anfífilas que presentan una cabeza hidrófila y dos cadenas hidrofóbicas apolares. Cuando los fosfolípidos

se dispersan en soluciones acuosas, debido a la naturaleza anfipática, tienen una fuerte tendencia a formar bicapas lipídicas concéntricas. Por un lado, las cabezas polares prefieren interaccionar con el entorno acuoso mediante enlaces de hidrógeno e interacciones polares. Por otro lado, las largas cadenas hidrofóbicas promueven la interacción mediante fuerzas de Van der Waals con otras cadenas. El comportamiento lipófilo actúa como una barrera de permeabilidad. La organización definitiva de los lípidos depende de su naturaleza, concentración, temperatura y forma geométrica. Los principios activos pueden ser encapsulados dentro de estas membranas durante el proceso de formulación. La adición de colesterol a la bicapa lipídica de los liposomas reduce su permeabilidad y aumenta la estabilidad in vitro e in vivo, debido a que favorece un empaquetamiento más denso de los fosfolípidos, además de controlar la velocidad de liberación. El uso de fosfatidilcolina ofrece una mayor estabilización y la inclusión de hidratos de carbono o polímeros hidrófilos, como gangliósidos tipo 1 GM1 y polietilenglicol (PGE, pegilación), prolongan el tiempo en el torrente sanguíneo.

La encapsulación de fármacos en la bicapa lipídica protege a estos de la degradación enzimática e inmunológica y de la inactivación química.

Liposomas convencionales y de larga circulación pueden presentar una liberación lenta del fármaco. Para superar estos problemas, se han desarrollado liposomas sensibles a estímulos, como pH, temperatura, campo magnético, sistemas redox o formación de complejos moleculares que puede resultar en una excelente retención de bases débiles, como en el caso de la doxorubicina. Estas estrategias se explican con detalle en el punto de vectorización.

La encapsulación de fármacos en liposomas debe presentar un comportamiento farmacocinético favorable y un índice terapéutico mejorado en comparación con el fármaco libre. Un meta-análisis comparó la seguridad y la toxicidad de los liposomas de doxorubicina frente a antraciclinas convencionales. Tanto liposomas pegilados y liposomas de doxorubicina mostraron perfiles de toxicidad favorables, con una mejor seguridad cardíaca y con menor mielosupresión, alopecia, náuseas y vómitos en comparación con antraciclinas convencionales., resultando útiles en mujeres con edad avanzada, debido al gran riesgo de problemas cardíacos que conlleva esta situación fisiológica especial.

Liposomas catiónicos son internalizados en la células vía endocítica, evitan la agregación de

los liposomas y aumentan la estabilidad física, además de prevenir el reconocimiento por las células del sistema fagocítico mononuclear ²¹. Campbell et al. demostraron que se necesita la presencia de una carga positiva para dirigir los fármacos citotóxicos al endotelio vascular del tumor y para lograr un mayor tiempo de circulación. Así fármacos como el paclitaxel o la doxorubicina mostraron una mayor eficacia antitumoral en liposomas positivos ²².

4.1.2. CONJUGADOS POLIMÉRICOS

El término conjugado se refiere a nanoestructuras híbridas consistentes en polímeros enlazados covalentemente a un agente terapéutico. Dentro de los conjugados poliméricos se distinguen tres grupos: conjugados polímero-proteína, conjugados anticuerpo-fármaco y conjugados polímero-fármaco. Los objetivos perseguidos con esta estrategia son mejorar la estabilidad del fármaco y reducir su inmunogenicidad hasta conseguir una biodistribución más adecuada ²³.

4.1.3. MICELAS

Las micelas, son nanoestructuras originadas a partir del auto-ensamblaje de moléculas anfífilas, generalmente tensoactivos, proteínas o polímeros sintéticos o naturales, de tamaño comprendido entre los 10 y los 100 nm. Estos sistemas presentan una estructura tipo reservorio con un núcleo generalmente hidrofóbico en el que normalmente se deposita al fármaco y una superficie hidrofílica. Por su sencillez y versatilidad en cuanto a preparación y componentes empleados, las micelas son consideradas hoy en día como nanomedicinas con mayor potencial en clínica a corto plazo ²⁴.

4.1.4. NANOPARTÍCULAS

Las nanopartículas son sistemas matriciales elaborados a partir de una gran variedad de materiales de origen natural, semisintético o sintético, en su mayoría polímeros. Dentro de los polímeros naturales investigados, encontramos algunas proteínas como la albumina, polisacáridos como el quitosano o el ácido hialurónico o polipéptidos y poliaminoácidos. Los materiales de origen sintético más empleados para el desarrollo de nanopartículas son los poliésteres y poliacrilatos. El material empleado afecta de manera importante a las propiedades y estructura de las nanopartículas y condiciona de manera determinante sus posibles aplicaciones clínicas ²⁵. Las nanocápsulas son sistemas reservorio constituidos por un núcleo líquido oleoso rodeado de una membrana polimérica. El principio activo suele encontrarse disuelto en el núcleo oleoso, aunque también puede estar adsorbido en la

superficie. Las nanoesferas o nanopartículas son sistemas matriciales constituidos por el entrecruzamiento de oligómeros o unidades de polímero, en los que el principio activo se puede encontrar atrapado en la red polimérica, disuelto en ella o adsorbido en su superficie ²⁶.

La descripción gráfica de los diferentes tipos de nanomedicinas puede consultarse en el anexo B.

4.2. POSIBILIDADES DE VECTORIZACIÓN EN CÁNCER DE MAMA

Las estrategias adoptadas hasta el momento para conseguir la orientación y acumulación de las nanomedicinas en las células tumorales se han basado en dos mecanismos diferenciados: el denominado “targeting” (vectorización) pasivo y el “targeting” activo ¹⁷ (anexo C).

4.2.1. VECTORIZACIÓN PASIVA

La vectorización pasiva consiste en el transporte de nanosistemas por simple convección a través de espacios intracelulares hacia el intersticio tumoral y su posterior acumulación en estos tejidos. El llamado efecto de permeabilidad y retención incrementados (Enhanced Permeability and Retention (EPR) en inglés) explica este fenómeno. Este efecto se fundamenta en la fisiología característica del endotelio de los capilares del tumor, cuyas células se encuentran frecuentemente separadas por espacios de entre 200 y 600 nm, permitiendo así el paso de nanoestructuras a través de ellas ²⁷. Además, la acumulación de las mismas en el tejido tumoral se ve favorecido por la pobre circulación linfática en este ambiente y la capacidad endocítica de las células tumorales hacia las citadas nanoestructuras ²⁹.

Se han identificado una serie de parámetros que influyen en el acceso de las nanomedicinas al tejido tumoral. Se sabe que para que ocurra una extravasación eficiente a través de las fenestras del tejido tumoral, las nanomedicinas deben presentar un tamaño inferior a los 400 nm, no obstante, para evitar la filtración renal necesitan ser mayores a 10 nm y para que sean específicamente capturados por el hígado deben presentar un tamaño menor a los 100 nm ²⁸.

La carga superficial de las partículas juega también un papel fundamental a la hora de conseguir nanomedicamentos de larga permanencia en el organismo después de su administración intravenosa o intramuscular. Dicha carga debe de ser preferentemente neutra o catiónica para evitar la interacción de la nanoestructura con las opsoninas, y en general, con las células sanguíneas. La composición química y la hidrofilia de la superficie de las

nanomedicinas son otros dos factores de gran importancia a la hora de evitar el proceso de eliminación por el Sistema Fagocítico Mononuclear (Mononuclear Phagocytic System, MPS). Se sabe que las partículas hidrofílicas son generalmente invisibles para las células del MPS por lo que presentan un mayor tiempo de circulación, lo que aumenta las probabilidades de que accedan al tejido tumoral.

Para otorgar estas propiedades a los diferentes sistemas desarrollados y, por lo tanto, mayores tiempos de permanencia en el organismo, una de las herramientas más utilizadas es la modificación de la superficie de las nanomedicinas mediante polímeros hidrofílicos ²⁹.

La técnica más utilizada ha sido la denominada pegilación, ya sea por el simple recubrimiento de las nanomedicinas con polietilenglicol (PEG) o modificando químicamente los componentes de los nanosistemas para que las cadenas del PEG queden expuestas en la superficie de los sistemas ³⁰.

EL PEG es un poliéter lineal o ramificado con un grupo hidroxilo en cada extremo, este polímero es altamente soluble en agua así como en varios solventes orgánicos y está aprobado por la FDA para su administración en seres humanos. Es inerte, no tóxico y no inmunogénico, además es fácilmente desechado por el cuerpo a través del riñón (pesos moleculares del polímero menores a 20 kDa), o del hígado (pesos moleculares mayores de 20 kDa). Se incorpora en la superficie de las nanomedicinas para crear el llamado efecto “estabilización estérica”, donde la moléculas de PEG forman una capa hidrófila protectora en la superficie de las nanomedicinas, impidiendo la interacción entre sí (agregación) y con los componentes de la sangre. Como resultado, la pegilación reduce la captación por macrófagos del MPS y prolonga los tiempos de circulación en sangre ³¹⁻³².

La técnica principal es la inclusión de conjugados de PEG-lípidos en liposomas. Los PEG-lípidos se preparan mediante derivación del grupo de cabeza polar de un diacilglicerofosfolípido, tal como diestearoilfosfatidiletanolamina (DSPE), con PEG. Tras la hidratación, los liposomas se forman con polímeros de PEG expuestos en las superficies. Las otras técnicas se basan en la formación del liposoma antes de la adición de polímeros de PEG. El método de post-conjugación, incluye la unión covalente de PEG funcionalizado a las nanopartículas preformadas. La post-inserción, se lleva a cabo mediante la incubación de los liposomas preformados con conjugados de PEG-lípidos en solución acuosa.

Como ejemplo, la incorporación de fosfolípidos sintéticos (conjugados con gangliósidos) en la superficie de nanopartículas sólidas lipídicas cargadas con doxorubicina permite incrementar la semivida plasmática del antitumoral en comparación con este fármaco administrado en forma de solución intravenosa ³².

Se han diseñado copolímeros de poli (D, L-lactida) (PLA) y PEG mediante una técnica especialmente sencilla basada en la formulación de emulsiones de aceite en agua (O/W). El PLA se localiza así en la fase orgánica y el PEG en la fase acuosa. La etapa final de esta técnica es la eliminación del disolvente orgánico, formándose así las nanopartículas de polímero con PEG en la superficie ³³.

4.2.2. VECTORIZACIÓN ACTIVA

El targeting activo hace referencia a la orientación activa del nanomedicamento, y no sólo una simple acumulación en los tejidos tumorales, motivada por su marcada especificidad hacia las células diana. Varias son las técnicas empleadas en el desarrollo de nanomedicinas dotados de una orientación específica, todas ellas relacionadas específicamente con características bioquímicas y fisiológicas particulares del tumor y con la sobreexpresión de receptores, condiciones del medio tumoral, etc. Estas estrategias permiten la liberación selectiva del fármaco en la región diana, minimizando las reacciones adversas asociadas ³⁴. La unión específica del sistema coloidal a la célula diana se logra eficientemente mediante mecanismos de reconocimiento molecular (principalmente, uniones ligando-receptor o interacciones antígeno-anticuerpo), lo que generalmente conduce a la internalización de la nanomedicina en la célula tumoral ¹⁷. A continuación se van a describir las diferentes estrategias para conseguir dicha orientación.

Los anticuerpos monoclonales son moléculas diseñadas para su interacción específica y unión con antígenos y receptores de las células cancerosas ¹⁷. Trastuzumab es un anticuerpo humanizado IgG1 κ que se une al dominio extracelular de HER2. Parece actuar por la inhibición directa del crecimiento del tumor y la activación de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo. En combinación con medicamentos quimioterapéuticos (taxanos, antraciclinas), el trastuzumab mejora los índices de respuesta y la supervivencia en pacientes con enfermedad metastásica y mejora la supervivencia total y la libre de enfermedad en el contexto coadyuvante ³⁵⁻³⁶.

Los receptores de folato se encuentran de forma muy abundante en las células cancerosas, ya que éstas tienen unos requerimientos muy importantes de ácido fólico para la síntesis de DNA. La interacción de las moléculas de ácido fólico con el receptor de folato α en las células tumorales conduce generalmente a un proceso de endocitosis que desemboca en una acumulación citosólica de estas moléculas. Se ha formulado paclitaxel en el interior de nanopartículas de PLA que presentan en su superficie cadenas de PEG y ácido fólico ³³.

La existencia natural de enzimas en la región tumoral se ha aprovechado para diseñar estrategias de transporte activo y así provocar la liberación del fármaco mediante la destrucción y/o liberación del sistema transportador. Nanopartículas sensibles a reacciones redox, diseñadas con un copolímero de tres bloques de PEG-ss-PLA-ss-PLA-ss-PEG con múltiples enlaces disulfuro se han desarrollado para la liberación selectiva de doxorrubicina en líneas tumorales en cáncer de mama. Estos enlaces se escinden en presencia de glutatión en una concentración de 10 mM (citósol), que resulta en la desintegración del núcleo hidrófobo de PLA y la eliminación de las unidades hidrofílicas de polietilenglicol, que conduce a una mayor liberación de doxorrubicina. El PLA presenta, al igual que el PEG, una alta biocompatibilidad y biodegradación y está aprobado por la FDA. El anticuerpo monoclonal trastuzumab y el ácido fólico se conjugan con estas nanopartículas para facilitar la orientación hacia células tumorales del cáncer de mama. Los estudios sobre la liberación in vitro demostraron un 90 % de liberación de doxorrubicina a pH 5,0 en presencia de glutatión 10 mM en comparación con un 20 % de liberación del fármaco a un pH 7,4. La presencia de ácido fólico y trastuzumab mejoraron la captación celular y el aumento de apoptosis en líneas celulares de cáncer de mama. Los estudios in vivo en tumor ascítico de Ehrlich en ratones albinos suizos mostraron una mayor eficacia antitumoral y una cardiotoxicidad mínima, con una regresión del tumor de un 90 % en comparación con un 38 % de regresión tumoral observada tras la administración intravenosa de doxorrubicina ³⁷ (anexo C).

El transporte activo mediado por cambios de pH es una de las estrategias de transporte activo de fármacos más prometedoras en la actualidad. Está basada en la utilización de materiales para la formulación de coloides que sean extremadamente sensibles a pequeños cambios de pH con respecto al natural de la sangre (pH = 7.4). Por ejemplo, a nivel de la región tumoral existen alteraciones en el flujo sanguíneo y peculiaridades metabólicas (p.ej., glicolisis aeróbica y anaeróbica) que determinan un pH \approx 6.6 en el intersticio tumoral. De esta manera, el sistema transportador se enfrentará a un entorno ligeramente ácido al que es muy sensible,

por lo que se destruirá, liberando al mismo tiempo el principio activo vehiculizado de forma específica en este lugar. Los materiales poliméricos que son sensibles a pH ácido contienen grupos carboxilo o sulfónicos, mientras que las partículas de naturaleza polimérica y sensibles a pH básico contienen en su estructura química sales de amonio. En este sentido, una posibilidad alternativa es la utilización de sistemas transportadores (como liposomas) sensibles a pH entre 4.5 y 5.0. Estos coloides tras su internalización por la célula tumoral mediante endocitosis, se degradarán en el interior de los lisosomas en este entorno ácido y bajo la acción de enzimas hidrolíticas como la cathepsina ³⁸.

El transporte activo controlado por cambios de temperatura resulta en una interesante forma de vehicular nanomedicamentos. Estos son elaborados con materiales termosensibles que se caracterizan por sufrir un proceso de desestabilización/destrucción ante ligeros cambios de temperatura (generalmente, incrementos). El polímero más empleado en el diseño de este tipo de sistemas transportadores es la poli (N-isopropilacrilamida). La principal razón que motiva su extensa utilización es que la temperatura que provoca su descomposición se encuentra muy próxima a la temperatura fisiológica ³⁸. Con el mismo fin, se han diseñado nanopartículas magnéticas constituidas por un núcleo de magnetita (Fe_3O_4) y recubiertas por dextrano-g-poli (N-isopropilacrilamida-N,N'-dimetilacrilamida) para la liberación selectiva del antitumoral doxorubicina en la masa tumoral. Este sistema transportador magnético tiene la capacidad de acumularse específicamente en el lugar de acción controlado por un campo magnético. Además, la utilización de un campo electromagnético alterno de gran frecuencia provoca el calentamiento específico de los núcleos magnéticos (efecto hipotérmico) y, así, el calentamiento específico y degradación del polímero, liberándose el agente antitumoral ³⁹.

Wang et al. informaron que la coadministración de fármacos citostáticos y DNA para regular la expresión de genes, a partir de nanopartículas suprime el crecimiento tumoral del cáncer de mama en un modelo de ratón de forma más eficiente que en monoterapia ⁴⁰. Posteriormente, Chiang et al. estudiaron la utilización de una terapia combinada, en ratones, que integra un cóctel de fármacos con un ligando de vehiculización para solucionar este problema. Además introdujeron el concepto de orientación magnética con un campo magnético externo aplicado localmente para reforzar la acumulación en el tumor. Así, diseñaron nanocápsulas con polímeros de poli (alcohol vinílico) (PVA) y poli (acrilato de metilo) (PMA), polímero sensible al pH funcionalizado con un grupo tiol (PMAA), y con la incorporación de óxido de hierro (Fe_2O_3), para la orientación magnética, encapsulando simultáneamente paclitaxel

(hidrofóbico) y doxorubicina (hidrofílico). Se consiguió un aumento en la liberación dual en un entorno intracelular ácido. Además estas nanocápsulas fueron equipadas con trastuzumab. Con el campo magnético, se observó un aumento evidente de la cantidad acumulada, aproximadamente 25,8 % ($77,49 \pm 12,4$ g) de paclitaxel y 20% ($20,09 \pm 6,3$ g) de doxorubicina de la dosis inicial se acumuló en el tumor, que fue 2,47 veces y 1.87 veces mayor que sin campo magnético. Demostrándose así, que además de la poliquimioterapia, la doble orientación (magnética y molecular) puede proporcionar múltiples beneficios en la terapia contra el cáncer de mama. Se consiguió también suprimir significativamente el crecimiento tumoral después del tratamiento, demostrándose una eficacia de la terapia. Se demostró la sinergia entre el agente de dirección trastuzumab y los citostáticos paclitaxel y doxorubicina, demostrándose la muerte celular *in vitro* y la supresión del crecimiento tumoral *in vivo* ⁴¹ (anexo C).

Kheirulomoon et al. emplearon liposomas sensibles a la temperatura cargados con lisolípidos, (productos de la degradación de fosfolípidos) y con un complejo pH dependiente formado por cobre (II) y doxorubicina. A pH fisiológico, el liposoma fue estable, disociándose el complejo para liberar a la doxorubicina a pH ácido. Los liposomas resultantes se inyectaron por vía intravenosa en un modelo de cáncer de mama murino. Sucesivamente, la liberación intravascular del fármaco fue provocado por ultrasonido, estrategia del transporte activo de fármacos no invasiva que permite lograr simultáneamente la localización selectiva del nanomedicamento en la región tumoral (expuesta a ultrasonidos) y su destrucción (con la consiguiente liberación del fármaco en esta zona) ⁴². En concreto, la aplicación de ultrasonidos en la región tumoral provoca un incremento en la permeabilidad de los capilares sanguíneos que irrigan el tumor, la generación de energía térmica y la alteración de las membranas de las células malignas ³⁸. El tumor fue insonificado durante 5 minutos antes de la administración y 20 minutos después de la inyección de los liposomas. Después del tratamiento dos veces por semana durante un período de 28 días, todos los ratones sobrevivieron, y el tumor fue indetectable a los 8 meses después del tratamiento. Indicadores de toxicidad, como la hipertrofia cardíaca, leucopenia o la pérdida de cabello no se detectaron después de la terapia de 28 días ⁴².

Las nanopartículas de oro tienen propiedades ópticas para absorber la luz y para la dispersión del infrarrojo de onda corta. La irradiación con un láser de infrarrojo puede inducir hipertermia en el tejido tumoral, con la subsiguiente ablandación del tumor, pudiendo

aumentar la supervivencia. La combinación de nanopartículas de oro con láser de infrarrojo ha demostrado su eficacia en líneas celulares de cáncer de mama in vitro. En un estudio, las células SK-BR-3 de cáncer de mamas incubadas con nanocápsulas de oro (estructuras esféricas que comprenden un núcleo de sílice y una capa delgada de oro), conjugadas con PEG sobrevivieron después del tratamiento con láser. La conjugación con trastuzumab con el tratamiento térmico mejoraron la captación de estas por el tejido tumoral, así como una mayor citotoxicidad. Hasta la hora, se han incluido paclitaxel o docetaxel en estas nanopartículas de oro ⁴³. You et al. compararon in vitro la doxorubicina libre o liposomal y nanocápsulas de oro con doxorubicina estimuladas con láser, siendo éstas más citotóxicas para las células MDA-MB-231 de cáncer de mama. Además, fueron menos cardiotóxicas que la doxorubicina liposomal ⁴⁴. Finalmente, debido al alto número atómico del oro, las nanopartículas de oro pueden utilizarse como agentes de contraste y como radiosensibilizantes, siendo una estrategia crucial en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico ⁴³.

La transferrina es la cuarta glicoproteína sérica más abundante con capacidad de fijar hierro, el cual es necesario para la síntesis de DNA. Consecuentemente, el receptor de transferrina (CD71) se encuentra sobreexpresado en numerosos tipos de cáncer, convirtiéndose en diana farmacológica, y permitiendo emplear la transferrina como ligando para vectorizar los sistemas de liberación controlada de fármacos antineoplásicos ⁴⁵. Estudios in vitro han demostrado que la conjugación de transferrina con nanopartículas de poli (D, L-lactida-co-glicolida) (PLGA) cargadas con paclitaxel, origina una mayor acción antitumoral del paclitaxel en células de cáncer de mama (MCF-7) debido a su gran retención intracelular ⁴⁶.

Los aptámeros son oligonucleótidos de cadena sencilla (DNA y RNA), cuya estructura comprende entre 20 y 80 oligonucleótidos, y gracias a su plegamiento tridimensional son reconocidos por determinadas proteínas diana con elevada afinidad y especificidad ⁴⁷. La multirresistencia a fármacos es el fenómeno más ampliamente explotado en el tratamiento del cáncer. La combinación de varios factores asociados al entorno biológico del tumor, junto con la pobre solubilidad, la inestabilidad y toxicidad sistémica de gran variedad de fármacos citostáticos ha conllevado al diseño de nanomedicinas para optimizar la administración de éstos. La sobreexpresión de transportadores de eflujo de drogas es uno de los fenómenos de resistencia múltiple a fármacos más ampliamente encontrado en clínica. La glicoproteína P (MDR1) es uno de los mecanismos más estudiados, por lo que para superarlo es necesario eludir el reconocimiento del transportador, inhibir su expresión o inhibir su función ⁴⁸. Deng

et al. diseñaron nanopartículas mediante la generación de una película que alterna siRNA (RNA interferente) con PLA, recubiertos a su vez de moléculas de ácido hialurónico, sustrato principal del receptor CD44, sobreexpresado en el tejido tumoral. En el núcleo de la nanopartícula se sitúa la doxorubicina. Las pacientes con cáncer de mama triple negativo no suelen responder al tratamiento con este fármaco, por lo que el diseño de esta nanomedicina va encaminado a disminuir las resistencias, al inhibir la expresión del gen de la proteína asociada a la resistencia a múltiples drogas MDR1, gracias al RNA interferente. En modelos animales, una dosis intravenosa redujo significativamente la expresión del gen diana en los tumores en casi un 80 % y condujo a una disminución de hasta 8 veces el volumen del tumor ⁴⁹.

Song et al. describieron la coencapsulación de vincristina y verapamilo, un inhibidor de la bomba de eflujo en nanopartículas de PLGA. En comparación con la administración sucesiva de vincristina y posteriormente verapamilo o viceversa, la administración conjunta en una nanopartícula logró una mejor inhibición de este mecanismo de resistencia en células MCF-7 de cáncer de mama ⁵⁰.

El transporte mediado por péptidos es también diana de muchos estudios. La existencia de la secuencia RGD (arginina-glicina-ácido aspártico) en determinados péptidos y macromoléculas peptidomiméticas, permite que estas biomoléculas tengan una alta afinidad por las integrinas que se encuentran “sobreexpresadas” en la neovasculatura tumoral ³⁴. El péptido RGD es capaz de reconocer al receptor $\alpha v \beta 3$ integrina que se encuentra sobreexpresado en la neovascularización de áreas subyacentes al tejido tumoral. Un estudio in vivo reportado por Hu et al. efectuado en ratones con cáncer de mama (MDA-MB-435) tratados una vez a la semana con micelas de PLA-PEG-RGD encapsulantes de paclitaxel reveló una significativa actividad apoptótica de las células tumorales con este tratamiento, sin el efecto sistémico asociado a la terapia convencional ⁵¹.

4.3. NANOMEDICINAS DESARROLLADAS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE MAMA

En la actualidad, el desarrollo de la nanomedicina ha llevado a que una gran variedad de nanomedicamentos se encuentren en un estado avanzado de desarrollo para su aplicación en la terapia del cáncer, bien ya comercializados o en avanzados estudios de fase clínica.

Myocet® (190 nm) es un preparado liposomal no pegilado de doxorubicina aprobado para el tratamiento de cáncer de mama, especialmente en metástasis. Las antraciclinas se asocian con cardiotoxicidad relacionada con la dosis, por lo que esta formulación liposomal aumenta el índice terapéutico de la doxorubicina libre, reduciendo el volumen de distribución y la toxicidad y aumentando la concentración del fármaco en el tejido neoplásico, además de disminuir los problemas de cardiotoxicidad.

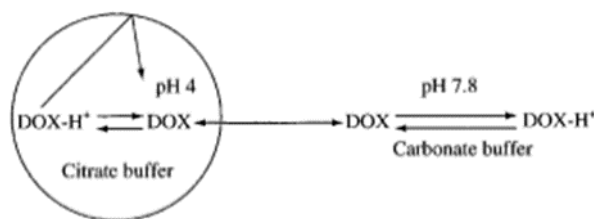


Figura 1. Esquema de liberación de doxorubicina desde el liposoma Myocet® ⁵³.

Está formado por fosfatidilcolina de huevo y colesterol en una proporción de 55:45 % y contiene 300 mN de citrato, con lo que se consigue una eficiencia de encapsulación superior al 95 %. Además, se reducen las fugas de este citostático gracias al complejo que forma con el citrato. La adición de carbonato de sodio a una suspensión acuosa de liposomas en un ambiente rico en protones (tampón de citrato) genera un pH de 7,8 en el exterior del liposoma y un pH de 4 en el interior de éste, liberándose este fármaco gracias a este gradiente. ⁵².

Otro sistema liposomal aprobado en 2005 para su uso clínico en EEUU y que actualmente está indicado para el cáncer de mama metastásico con un alto riesgo cardíaco es el Doxil ®. A pesar de que ambas formulaciones poseen características y naturaleza similar, la principal y gran diferencia entre el Doxil ® y Myocet ® radica en la pegilación de la superficie del primer sistema. Con esta estrategia, descrita previamente, se ha conseguido incrementar el tiempo de circulación plasmática de la doxorubicina en más de 40 horas con respecto a lo obtenido por el sistema sin pegilar ⁵³.

El Opaxio®, fue el primer conjugado polímero-fármaco. Consiste en un conjugado del ácido poliglutámico y el paclitaxel que se encuentra en fase clínica III para su indicación clínica en el tratamiento del cáncer de mama, ovario y colorrectal. Esta formulación ha sido diseñada para aumentar la solubilidad del fármaco y así evitar los efectos indeseables asociados al uso

de disolventes lipídicos como el Cremophor®. Además ha conseguido aumentar la eficacia del antitumoral ¹⁷⁻²³.

El polímero HPMA ha sido también utilizado para formar conjugados con la doxorubicina, estando dos formulaciones denominadas PK1 y PK2 en ensayos clínicos de fase II. La PK1 se está ensayando para el tratamiento del cáncer de mama, colon y pulmón, consiguiendo una reducción de la toxicidad sistémica de este fármaco ¹⁷⁻⁵⁴.

La pegilación también es una estrategia que se está desarrollando en clínica. El sistema NKTR-102 es un conjugado entre el fármaco irinotecán y el PEG, que actualmente se encuentra en estudios de fase III para el tratamiento del cáncer de mama metastásico. Esta formulación ha permitido aumentar la eficacia antitumoral debido a una mayor concentración del irinotecán en el tumor ⁵⁵.

El emtansine de Trastuzumab (Kadcyla®) es un conjugado anticuerpo-fármaco que consiste en el anticuerpo monoclonal trastuzumab vinculado a la mertansine, agente citotóxico, que destruye a las células tumorales mediante su unión a la tubulina. Muestra un aumento en la supervivencia con respecto al lepatinib y la capecitabina en pacientes con cáncer de mama con metástasis después del tratamiento con trastuzumab y con taxanos ⁵⁶.

Los taxanos, como el docetaxel y el paclitaxel, debido a su naturaleza hidrofóbica y a su muy baja solubilidad en agua son algunos de los candidatos ideales para ser formulados mediante esta herramienta. Una formulación que se encuentra en fase III para el tratamiento del cáncer de mama, de pulmón no microcítico y de páncreas es el Genexol-PM ®. Este preparado consiste en micelas poliméricas, libre de Cremophor®, construidas por un polímero de tipo dibloque de ácido poliláctico-PEG (PLA-PEG) encapsulando al paclitaxel. Los sistemas obtenidos presentan un rango de tamaños de los 20-50 nm ⁵⁷. En un estudio multicéntrico para evaluar la eficacia y seguridad de este nanomedicamento en 41 mujeres con cáncer de mama metastásico, que recibieron Genexol-PM ® 300 mg/m² por infusión intravenosa durante 3 horas cada 3 semanas mostró una tasa global de respuesta del 58,5 % (IC 95%: 43,5-72,3) con 5 respuestas completas y 19 respuestas parciales. Treinta y siete pacientes que recibieron Genexol-PM ® como terapia de primera línea para su enfermedad metastática mostraron una tasa de respuesta del 59,5 % (IC 95 %:43,5-73,7) y dos respuestas se registraron eficaces de cuatro paciente que recibieron el tratamiento como segunda línea ⁵⁸.

Otra formulación de paclitaxel, es el denominado NK105, formada por micelas de PEG-Poliaspartato con un tamaño medio de 80 nm. Esta formulación se encuentra en estudios clínicos de III en su indicación para el cáncer de mama ¹⁷.

El NK012, que se encuentra en fase II, consiste en micelas de PEG-Poliglutamato que contienen un análogo de camptotecina, metabolito del irinotecán, el SN38. En esta formulación, el principio activo se encuentra unido covalentemente a los residuos hidrofóbicos del copolímero, lo que permite una lenta liberación del mismo a partir de la degradación del propio sistema ⁵⁹.

El docetaxel formulado en micelas de PEG-ácido poli-D-L-láctico, se encuentra en estudios clínicos de fase I, en su indicación para el tratamiento del cáncer de mama avanzado bajo el nombre de Nanoxel-PM®. Esta formulación ha conseguido una reducción significativa de los efectos adversos del docetaxel convencional y una mayor eficiencia para la administración del fármaco a las células diana ⁶⁰.

La formulación Abraxane® es un sistema a base de nanopartículas constituidas por la forma amorfa del paclitaxel unido a la albúmina, a una concentración del 3-4 %. Actualmente se encuentra aprobado por la FDA y la EMA para su uso en humanos y está indicado para el tratamiento del cáncer de mama metastásico (anexo E).

La albúmina es una proteína plasmática que se une mediante enlaces no covalentes a moléculas hidrófobas en el torrente sanguíneo. También es el medio por el cual los ácidos grasos, hormonas y vitaminas liposolubles son transportados. Estas nanopartículas se forman como una micela dentro de un núcleo hidrofóbico bajo condiciones de alta presión; el paclitaxel se une a los aminoácidos cargados negativamente de la albúmina, quedando recubierto por una albúmina hidrófila. Cada complejo de albúmina se repele electrostáticamente entre sí, lo que permite la formación de una suspensión homogénea mediante la prevención de la floculación. Esta suspensión coloidal con nanopartículas de 130 nm se administra por vía intravenosa, dispersándose en complejos de menor tamaño (10 nm), disminuyendo así la obstrucción capilar. Se ha demostrado que el Cremophor® disminuye la fracción libre del fármaco, además provoca la formación de micelas y la disminución en su biodisponibilidad y volumen de distribución. Un estudio farmacocinético aleatorizado cruzado en pacientes con tumores sólidos demostró que la fracción de paclitaxel libre fue

significativamente mayor en pacientes tratados con nanopartículas de albúmina en comparación con los pacientes tratados con paclitaxel estándar (6,3 % vs. 2,4 %).

El sistema ha demostrado una mayor eficacia comparado con el medicamento tradicional para esta terapia, el Taxol®. Esta eficacia se asocia a la posibilidad de administrar mayores dosis de paclitaxel evitando los efectos secundarios causados por el aceite de ricino peguilado. Por otro lado, algunos estudios han demostrado que la albúmina también juega un papel agonista en la efectividad del paclitaxel, debido a su interacción con dos proteínas en circulación sanguínea. Una de las proteínas es la gp60, localizada en la superficie del endotelio vascular, la cual facilita la acumulación de las nanopartículas en el fluido intersticial del tumor. La segunda es la osteonectina o SPARC (proteína secretada ácida y rica en cisteína) que se encuentra en la superficie de una gran variedad de células tumorales e interacciona con la albúmina provocando la acumulación de las nanopartículas en las células tumorales⁶¹⁻⁶²⁻⁶³ (anexo D).

Datos procedentes de 106 pacientes reclutados en dos ensayos clínicos abiertos no controlados y de 454 pacientes que recibieron tratamiento en un ensayo fase III comparativo y aleatorio, avalan el uso de Abraxane® en el tratamiento del cáncer de mama metastásico. En un ensayo, se administró una dosis de 175 mg/m² de Abraxane en perfusión durante 30 minutos a 43 pacientes con cáncer de mama metastásico. El segundo ensayo utilizó una dosis de 300 mg/m² en perfusión de 30 minutos en 63 pacientes con cáncer de mama metastásico. Los ciclos se administraron a intervalos de 3 semanas. Las tasas de respuesta en todos los pacientes fueron del 39,5 % (IC 95 %: 24,9 %-54,2 %) y 47,6 % (IC 95 %: 35,3 %-60,0 %), respectivamente. La mediana del tiempo hasta la progresión de la enfermedad fue de 5,3 meses (175 mg/m²; IC 95 %: 4,6-6,2 meses) y 6,1 meses (300 mg/m²; IC 95 %: 4,2-9,8 meses).

Un ensayo multicéntrico, aleatorio y comparativo se realizó en pacientes con cáncer de mama metastásico, que recibieron tratamiento cada 3 semanas con paclitaxel en monoterapia, bien como paclitaxel con solventes a una dosis de 175 mg/m² en perfusión de 3 horas con premedicación para prevenir la hipersensibilidad (N = 225), o Abraxane 260 mg/m² en perfusión de 30 minutos sin premedicación (N = 229). El 64 % de los pacientes tenía un estado funcional de 1 o 2 en la escala ECOG (por sus siglas en inglés, Eastern Cooperative Oncology Group) al comienzo del ensayo; el 79 % tenía metástasis viscerales; y el 76 %

presentaba > 3 localizaciones metastásicas. El 14 % de los pacientes no había recibido quimioterapia previa, el 27 % había recibido quimioterapia sólo durante el tratamiento adyuvante, el 40 % como tratamiento de la enfermedad metastásica y el 19 % como tratamiento adyuvante y metastásico. El 59 % de los pacientes recibió el medicamento de estudio como terapia en segunda línea o posteriores. El 77 % de los pacientes había recibido tratamiento previo con antraciclinas.

Variable de eficacia	Abraxane (260 mg/m ²)	Paclitaxel con solventes (175 mg/m ²)	valor de p
<i>Tasa global de respuestas [IC 95 %] (%)</i>			
Tratamiento en >1 ^a línea	26,5 [18,98; 34,05] (n = 132)	13,2 [7,54; 18,93] (n = 136)	0,006 ^a
<i>*Mediana del tiempo hasta la progresión [IC 95 %] (semanas)</i>			
Tratamiento en >1 ^a línea	20,9 [15,7; 25,9] (n = 131)	16,1 [15,0; 19,3] (n = 135)	0,011 ^b
<i>*Mediana de la supervivencia libre de progresión [IC 95 %] (semanas)</i>			
Tratamiento en >1 ^a línea	20,6 [15,6; 25,9] (n = 131)	16,1 [15,0; 18,3] (n = 135)	0,010 ^b
<i>*Supervivencia [IC 95 %] (semanas)</i>			
Tratamiento en >1 ^a línea	56,4 [45,1; 76,9] (n = 131)	46,7 [39,0; 55,3] (n = 136)	0,020 ^b

Tabla 2. Resultados del ensayo multicéntrico, aleatorio y comparativo en mujeres con cáncer de mama metastásico ⁶⁵.

^a Test de chi-cuadrado (χ^2); ^b Test de rangos logarítmicos (log-rank)

Se evaluó la seguridad en 229 pacientes tratados con Abraxane en el ensayo clínico controlado y aleatorio. La evaluación de la neurotoxicidad del paclitaxel se basó en la mejora en un grado en pacientes que experimentaron neuropatía periférica grado 3 en cualquier momento durante el tratamiento ⁶⁴.

5. CONCLUSIONES

La terapia contra el cáncer de mama se encuentra mayoritariamente limitada a la radioterapia y quimioterapia, técnicas altamente invasivas e incómodas para el paciente y que en muchos casos conducen a la alteración de su salud integral.

En este sentido, una de las herramientas principales con las que cuenta la medicina hoy en día es el uso de nanomedicinas. Las revisiones estudiadas han demostrado que éstas permiten una orientación selectiva hacia el tejido tumoral, son capaces de atravesar barreras biológicas para liberar uno o múltiples agentes terapéuticos a nivel local y permiten alcanzar altas concentraciones de los mismos a tiempos apropiados y en condiciones fisiológicas específicas del área tumoral. Además solucionan problemas de solubilidad y estabilidad química de los citostáticos, y mejoran la farmacocinética y disminuyen las resistencias ligadas a los fármacos incluidos en los esquemas de quimioterapia contra el cáncer de mama.

Con todo ello, las nanomedicinas desarrolladas para el tratamiento del cáncer de mama han conseguido una mayor tasa de respuesta, supervivencia y un tiempo más largo hasta la progresión, además de conseguir disminuir los efectos adversos de la quimioterapia en pacientes con cáncer de mama.

Si bien en la actualidad se ha logrado poner en marcha una amplia gama de estrategias para el transporte específicos del fármaco antitumoral, la mayoría de los ensayos realizados hasta el momento se refieren a experiencias in vitro e in vivo. Es el momento en que, con el aval que ofrecen los interesantes resultados obtenidos, introducir estas estrategias en ensayos clínicos.

Por ello, el objetivo a largo plazo consiste en consolidar una medicina personalizada que pueda tratar el cáncer aún antes de que este se manifieste como una amenaza a la vida del paciente.

ANEXOS

ANEXO A. Clasificación TNM para el cáncer de mama según la *American Joint Committee on Cancer* ⁶

Tumor Primario (T)	Tx: el tumor primario no puede ser evaluado		
	T0: no hay evidencia de tumor primario		
	Tis: carcinoma in situ	Tis (DCIS): carcinoma ductal in situ	
		Tis (LCIS): carcinoma lobular in situ	
		Tis (Paget's): enfermedad del pezón no asociado con tumor invasivo y/o carcinoma in situ en el parénquima subyacente	
	T1: Tumor ≤20 mm	T1mi: tumor ≤1 mm	
		T1a: tumor >1 mm, pero ≤5 mm	
		T1b: tumor >5 mm, pero ≤10 mm	
		T1c: tumor >10 mm, pero ≤20 mm	
	T2: tumor >20 mm, pero ≤50 mm		
	T3: tumor >50 mm		
T4: cualquier tamaño con extensión a la pared pectoral y/o la piel (ulceración o nódulos cutáneos)	T4a: extensión a la pared torácica, no incluye únicamente adherencia/invasión músculos pectorales		
	T4b: ulceración y/o nodos satélite ipsilaterales y/o edema de la piel, que no cumple criterios para tumor inflamatorio		
	T4c: ambos T4a y T4b		
	T4d: carcinoma inflamatorio		

Ganglios linfáticos regionales (N)	Clínica	Nx: ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados (ej. eliminados previamente)		
		N0: no hay evidencia metástasis regional ganglionar		
		N1: metástasis ipsilateral nivel I, II en ganglios linfáticos axilares		
		N2: metástasis ipsilateral nivel I, II en ganglios axilares clínicamente manifestos en ganglios mamarios internos ipsilaterales en ausencia de evidencia clínica de metástasis	N2a: metástasis ipsilateral nivel I, II en ganglios axilares fijados unos a otros o a otras estructuras	
			N2b: metástasis clínicamente manifiesta en ganglios mamarios internos y en ausencia de evidencia clínica de metástasis en ganglios axilares nivel I, II	
		N3: metástasis intracavicular (nivel III axilar) con/sin afectación ganglios axilares nivel I, II; o evidencia clínica metástasis axilar nivel I, II en ganglios mamarios internos ipsilaterales; o metástasis supraclavicular con/sin afectación axilar o mamaría interna	N3a: metástasis ganglios intracaviculares ipsilaterales	
	N3b: metástasis en ganglios mamarios internos y axilares			
	N3c: metástasis en ganglios supraclaviculares			
	Patológica (pN)	pNx: ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados (ej. extirpados previamente)		
		pN0: no hay metástasis regional identificada histológicamente	pN0 (i-): histológicamente no hay metástasis regional, IHC (inmunoistoquímica) negativa	
			pN0 (i+): células tumorales en ganglio regional <0,2 mm, IHC positivo (IHC≥0,2 mm)	
			pN0 (mol-): histológicamente no metástasis regional, signos moleculares negativos (RT-PCR)	
			pN0 (mol+): signos moleculares positivos (RT-PCR), pero no metástasis regional detectada por histología o IHC	

Ganglios linfáticos regionales (N)	Patológica (pN)	pN1: micrometástasis; o metástasis en 1 a 3 ganglios axilares; y/o en ganglios mamaros internos con metástasis detectada con biopsia ganglio centinela pero no manifiesta clínicamente	pN1mi: micrometástasis (>0,2 mm y/o más de 200 células, pero ninguno >2,0 mm)	
			pN1a: metástasis en 1-3 ganglios axilares, al menos una >2,0 mm	
			pN1b: metástasis en ganglios mamaros internos, con micro o macrometástasis detectada con biopsia ganglio centinela, pero no manifiesta clínicamente	
		pN2:metástasis en 4 a 9 ganglios axilares; o clínicamente manifiesta en ganglios mamaros en ausencia de metástasis en ganglios axilares	pN1c: metástasis en 1-3 ganglios axilares y ganglios internos mamaros, con micro o macrometástasis detectada con biopsia ganglio centinela, pero no manifiesta clínicamente	
			pN2a: metástasis en 4 -9 ganglios axilares (al menos uno >2,0 mm)	
			pN2b: metástasis manifiesta clínicamente en ganglios mamaros internos en ausencia de metástasis en ganglios axilares	
Metástasis Distantes (M)		pN3: metástasis ≥10 ganglios axilares; o en ganglios infraclaviculares (nivel III axilar); o en ganglios mamaros internos en presencia de uno o más ganglios axilares positivos nivel I, II; o en más de 3 ganglios axilares y micro o macro metástasis en ganglios mamaros internos detectados con biopsia de ganglio centinela pero no manifiesta clínicamente; o en ganglios supraclaviculares	pN3a: metástasis en 10 o más ganglios axilares (al menos uno >2,0 mm); o metástasis en ganglios infraclaviculares (nivel III axilar)	
			pN3b: metástasis en ganglios mamaros internos clínicamente manifiesta en presencia de 1 o más ganglios axilares positivo;; o en más de 3 ganglios axilares y ganglios mamaros internos con micro o macro metástasis detectada con biopsia ganglio centinela pero no clínicamente manifiesta	
			pN3c: metástasis en ganglios supraclaviculares	
Metástasis Distantes (M)			M0: no hay evidencia clínica o radiográfica de metástasis distante	
			cM0(i+): no hay evidencia clínica o radiográfica de metástasis distante, pero depósitos moleculares o microscópicos de células tumorales se detectan circulando en sangre, médula ósea u otros tejidos ganglionares intrarregionales <0.2 mm en un paciente si síntomas o signos de metástasis	
			M1: metástasis distante determinada por la clínica y medios radiográficos y/o histológicamente >0.2mm	

ANEXO B. Descripción gráfica de los diferentes tipos de nanomedicinas

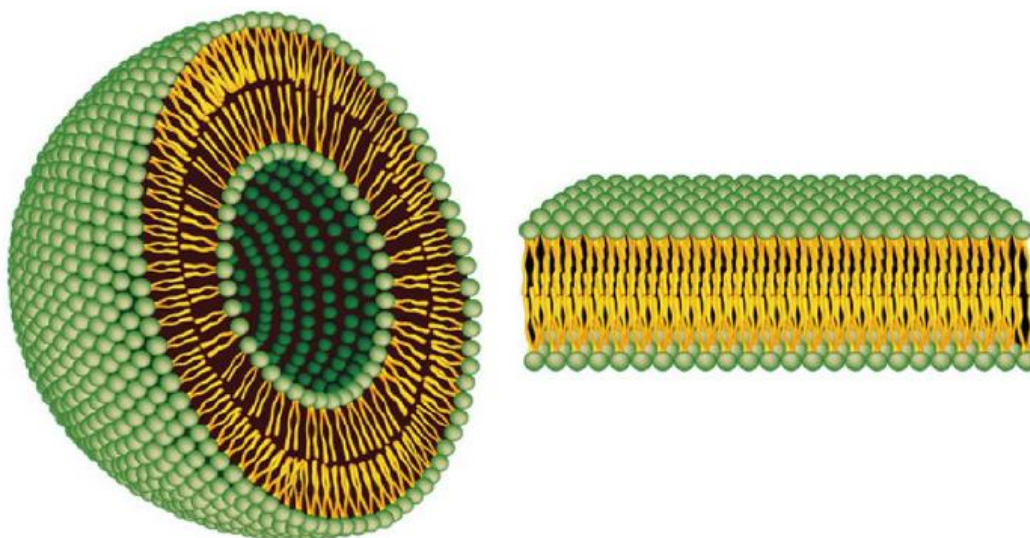


Figura 1. Representación esquemática de un liposoma (izquierda) y una bicapa lipídica (derecha) a base de moléculas anfifílicas ²¹.

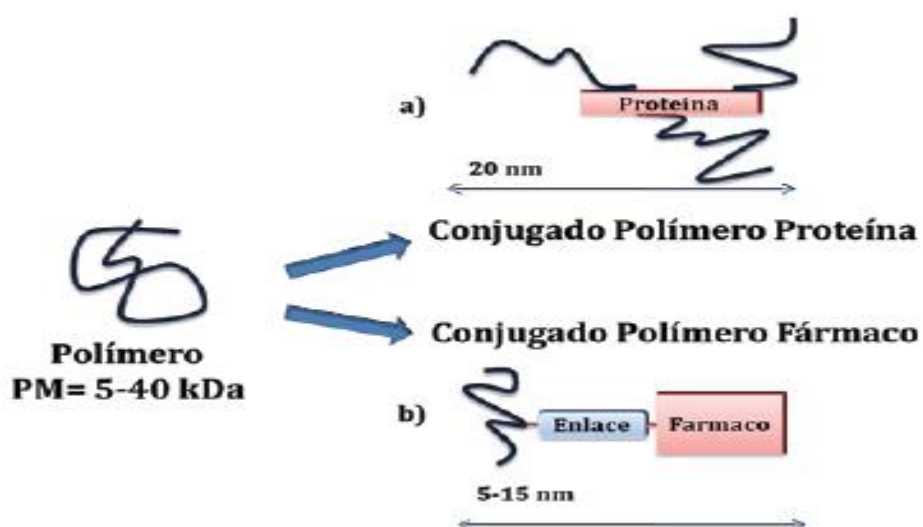


Figura 2. Diferentes tipos de conjugados poliméricos: a) conjugado polímero-proteína (anticuerpo), b) conjugado polímero-fármaco ²³.

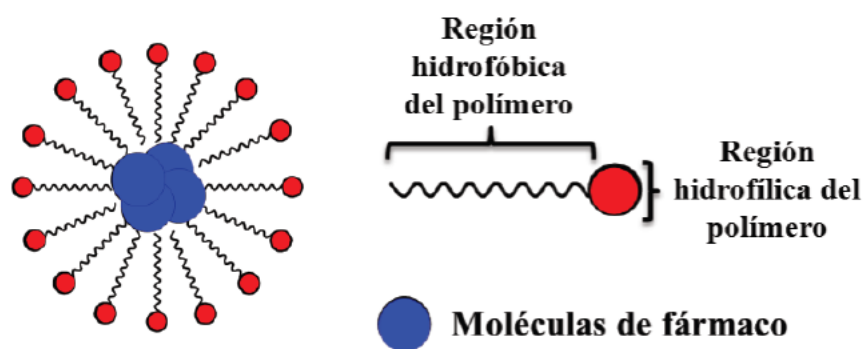


Figura 3. Representación de una micela polimérica mostrando los diferentes componentes ²⁴.

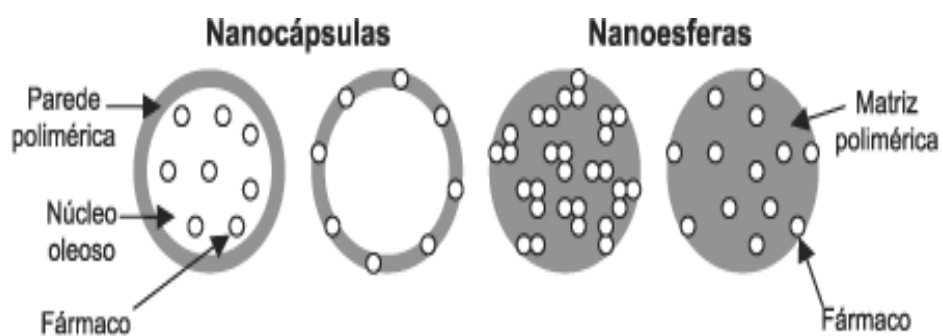


Figura 4. Representación de nanocápsulas (izquierda) y nanoesferas (derecha) ²⁵.

ANEXO C. Vectorización de nanomedicinas.

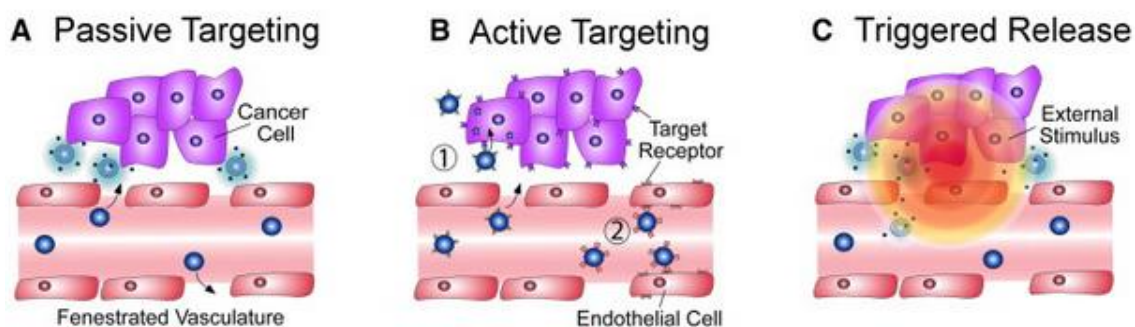


Figura 5. Sinopsis de las diferentes estrategias de vectorización: “targeting” pasivo (izquierda), “targeting” activo (centro) y vectorización mediada por estímulos (derecha) ¹⁷.

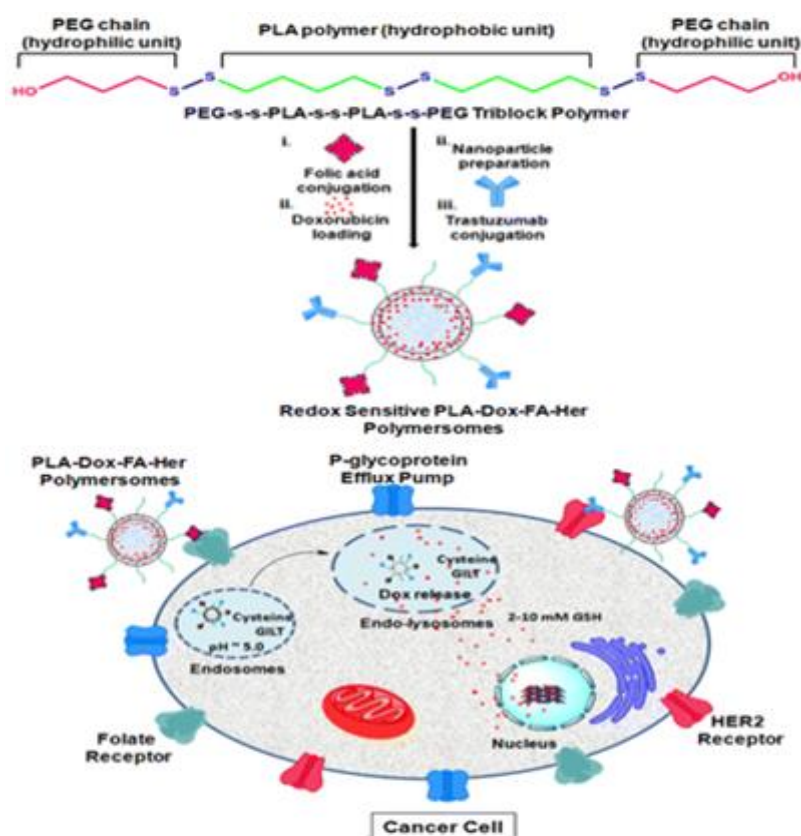


Figura 6. Esquema del comportamiento de nanopartículas sensibles a reacciones redox, diseñadas con un copolímero de tres bloques PEG-ss-PLA-ss-PLA-ss-PEG con enlaces disulfuro, trastuzumab y ácido fólico para la liberación selectiva de doxorubicina en líneas tumorales del cáncer de mama ³⁷.

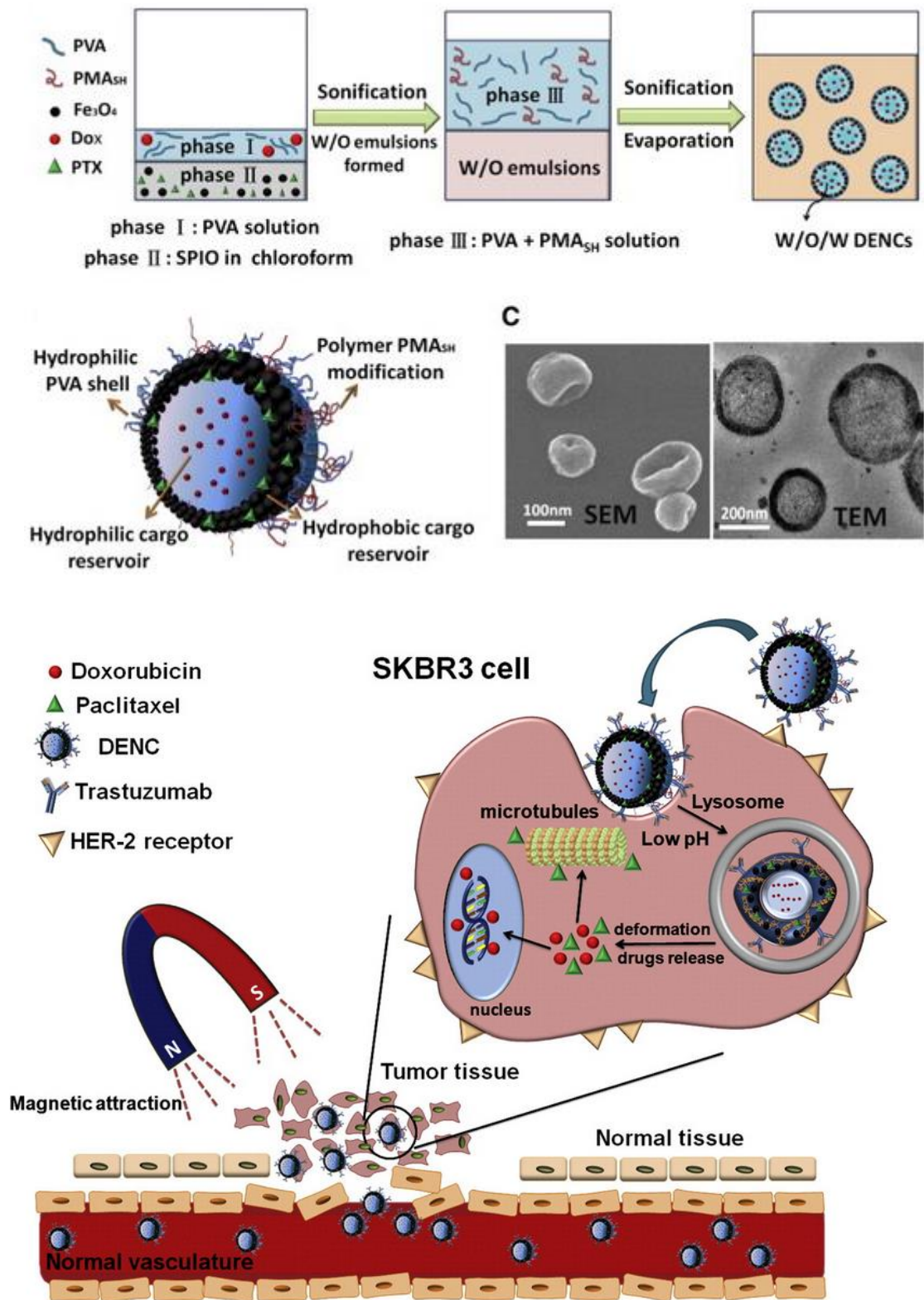


Figura 7. Esquema de nanocápsulas de paclitaxel y doxorubicina diseñadas con polímeros de PVA y PMMA. La vectorización hacia células tumorales SK-BR-3 se consiguió a través de campos magnéticos y mediante el anticuerpo monoclonal trastuzumab ⁴¹.

ANEXO D. Nanomedicinas desarrolladas para el tratamiento del cáncer de mama:
Abraxane®

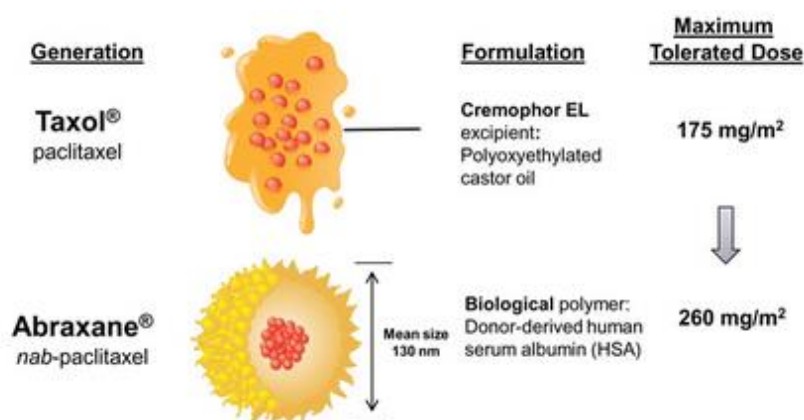


Figura 8. Comparación de la formulación convencional de paclitaxel, Taxol® y nanopartículas de albúmina de paclitaxel, Abraxane® ¹⁷.

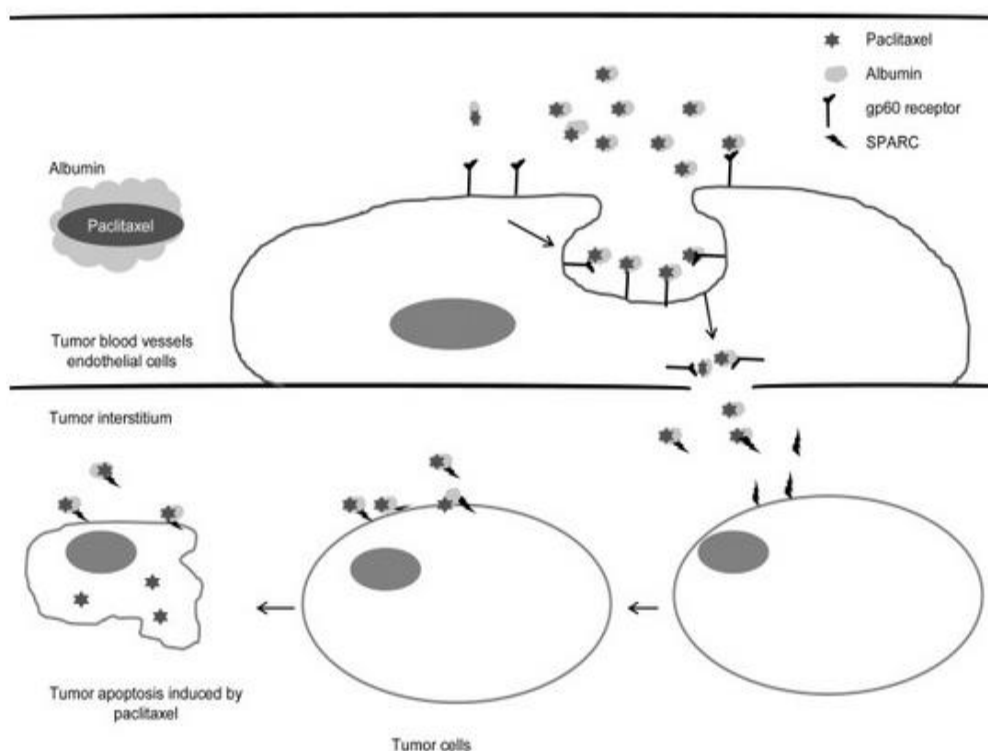


Figura 9. Mecanismo de interacción de las nanopartículas de albumina con la células tumorales de mama y liberación de paclitaxel desde el sistema Abraxane® ⁶³.

BIBLIOGRAFÍA

1. OMS. Organización Mundial de la Salud [Sede Web]. Ginebra: OMS; 2015 [citado 1 marzo 2015]. Centro de Prensa. Notas Descriptivas. Cáncer (nº 297). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
2. López Otín C. Invasión Tumoral y Metástasis. En Cascales Angosto M, Chavarría Crespo, F. Proliferación Celular y Cáncer 2000. 1ª ed. Real Academia Nacional de Farmacia y Fundación Científica de la AECC. Madrid; 2001. p. 37-55.
3. American Cancer Society. Global Cancer Facts & Figures 3rd Edition [Monografía en internet]. Atlanta: American Cancer Society; 2015 [citado 1 marzo 2015]. Disponible en: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-044738.pdf>
4. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA-Cancer J Clin. 2015; 65(2):87-108.
5. Lippman M. Cáncer de Mama. En: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al, Eds. Harrison Principios de Medicina Interna. Vol 1. 18ª ed. México: McGraw-Hill; 2013. p. 441-446.
6. AJCC. The American Joint Committee on Cancer [Sede Web]. Chicago: AJCC; 2009 [actualizado 2009; citado 3 marzo 2015]. What is Cancer Staging? Disponible en: <https://cancerstaging.org/references-tools/Pages/What-is-Cancer-Staging.aspx>
7. AJCC. The American Joint Committee on Cancer [Sede Web]. Chicago: AJCC; 2009 [citado 3 marzo 2015]. Quick References. Breast Staging Schema. Disponible en: <https://cancerstaging.org/references-tools/quickreferences/Documents/BreastSmall.pdf>
8. American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014 [Monografía en internet]. Atlanta: American Cancer Society; 2013. [citado 4 marzo 2015]. Disponible en: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-042725.pdf>
9. Arrechea Irigoyen MA, Vicente García F, Córdoba Iturriagagoitia A, Ibáñez Beroiz B, Santamaría Martínez M, Guillén Grima F. Subtipos moleculares del cáncer de mama:

implicaciones pronósticas y características clínicas e inmunohistoquímicas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*. 2011; 34(2):219-33.

10. NCI. Nacional Cancer Institute [Sede Web]. Bethesda: NCI; 2015 [citado 10 marzo 2015]. Tipos de Cáncer. Cáncer de Seno. Tratamiento (PDQ®). Disponible en: Disponible en: <http://www.cancer.gov/espanol/tipos/seno/paciente/tratamiento-seno-pdq>
11. Pestalozzi BC, Luporsi-Gely E, Jost LM, Bergh J, Force EGT. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up of primary breast cancer. *Ann Oncol*. 2005; 16:7-9.
12. AECC. Asociación Española Contra el Cáncer [Sede Web]. Madrid: AECC; 2014 [citado 12 marzo 2015]. Sobre el Cáncer. Cáncer de Mama. Tratamiento.[aprox. 5 pantallas] Disponible en: <https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/CancerMama/Paginas/canцерdemama.aspx>
13. But-Hadzic J, Bilban-Jakopin C, Hadzic V. The Role of Radiation Therapy in Locally Advanced Breast Cancer. *Breast J*. 2010; 16(2):183-8.
14. Chabner BA. Taxanos. En Chabner BA, Lynch TJ, Longo DL. *Harrison Manual de Oncología*. 1ª ed. México: McGraw-Hill; 2010. p. 24-30.
15. Chabner BA. Alcaloides de la Vinca. En Chabner BA, Lynch TJ, Longo DL. *Harrison Manual de Oncología*. 1ª ed. México: McGraw-Hill; 2010. p. 32-33.
16. Chabner BA, Zuckerman D. Inhibidores de la Topoisomerasa: Camptotecinas, Antraciclinas y Etopósidos. En Chabner BA, Lynch TJ, Longo DL. *Harrison Manual de Oncología*. 1ª ed. México: McGraw-Hill; 2010. p. 35-43.
17. Wicki A, Witzigmann D, Balasubramanian V, Huwyler J. Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. *J Control Release*. 2015; 200:138-57.
18. Kim S, Kim JH, Jeon O, Kwon IC, Park K. Engineered polymers for advanced drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm*. 2009; 71(3):420-30.
19. Ferrari M. Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges. *Nat Rev Cancer*. 2005; 5(3):161-71.

20. Allen TM, Cullis PR. Drug delivery systems: Entering the mainstream. *Science*. 2004; 303(5665):1818-22.
21. Bozzuto G, Molinari A. Liposomes as nanomedical devices. *Int J Nanomed*. 2015; 10:975-99.
22. Campbell RB, Fukumura D, Brown EB, Mazzola LM, Izumi Y, Jain RK, et al. Cationic charge determines the distribution of liposomes between the vascular and extravascular compartments of tumors. *Cancer Res*. 2002; 62(23):6831-6.
23. Vicent MJ, Duncan R. Polymer conjugates: nanosized medicines for treating cancer. *Trends Biotechnol*. 2006; 24(1):39-47.
24. Blanco E, Hsiao A, Mann AP, Landry MG, Meric-Bernstam F, Ferrari M. Nanomedicine in cancer therapy: Innovative trends and prospects. *Cancer Sci*. 2011; 102(7):1247-52.
25. Hervella P, Lozano V, García-Fuentes M. Nanomedicine: New Challenges and Opportunities in Cancer Therapy. *J Biomed Nanotechnol*. 2008; 4(3):276-92.
26. Llabot JM, Palma SD, Allemandi DA. Nanopartículas poliméricas sólidas. *Revista Nuestra Farmacia*. 2008; 53:40-7.
27. Maeda H, Bharate GY, Daruwalla J. Polymeric drugs for efficient tumor-targeted drug delivery based on EPR-effect. *Eur J Pharm Biopharm*. 2009; 71(3):409-19.
28. Fang J, Nakamura H, Maeda H. The EPR effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. *Adv Drug Deliv Rev*. 2011; 63(3):136-51.
29. Danhier F, Feron O, Preat V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *J Control Release*. 2010; 148(2):135-46.
30. Owens DE, Peppas NA. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *Int J Pharm*. 2006; 307(1):93-102.
31. Howard MD, Jay M, Dziublal TD, Lu XL. PEGylation of nanocarrier drug delivery systems: State of the art. *J Biomed Nanotechnol*. 2008; 4(2):133-48.

32. Wang M, Thanou M. Targeting nanoparticles to cancer. *Pharmacol Res.* 2010; 62(2):90-9.
33. Patil YB, Toti US, Khdair A, Ma L, Panyam J. Single-step surface functionalization of polymeric nanoparticles for targeted drug delivery. *Biomaterials.* 2009; 30(5):859-66.
34. Byrne JD, Betancourt T, Brannon-Peppas L. Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008; 60(15):1615-26.
35. Grobmyer SR, Zhou GY, Gutwein LG, Iwakuma N, Sharma P, Hochwald SN. Nanoparticle delivery for metastatic breast cancer. *Maturitas.* 2012; 73(1):19-26.
36. Figueroa-Magalhaes MC, Jelovac D, Connolly RM, Wolff AC. Treatment of HER2-positive breast cancer. *Breast.* 2014; 23(2):128-36.
37. Lale SV, Kumar A, Prasad S, Bharti AC, Koul V. Folic Acid and Trastuzumab Functionalized Redox Responsive Polymersomes for Intracellular Doxorubicin Delivery in Breast Cancer. *Biomacromolecules.* 2015; 16(6):1736-52.
38. Bawa P, Pillay V, Choonara YE, du Toit LC. Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery. *Biomed Mater.* 2009; 4(2):15.
39. Ang KL, Venkatraman S, Ramanujan RV. Magnetic PNIPA hydrogels for hyperthermia applications in cancer therapy. *Mater Sci Eng C-Biomimetic Supramol Syst.* 2007; 27(3):347-51.
40. Wang Y, Gao SJ, Ye WH, Yoon HS, Yang YY. Co-delivery of drugs and DNA from cationic core-shell nanoparticles self-assembled from a biodegradable copolymer. *Nat Mater.* 2006; 5(10):791-6.
41. Chiang CS, Hu SH, Liao BJ, Chang YC, Chen SY. Enhancement of cancer therapy efficacy by trastuzumab-conjugated and pH-sensitive nanocapsules with the simultaneous encapsulation of hydrophilic and hydrophobic compounds. *Nanomed-Nanotechnol Biol Med.* 2014; 10(1):99-107.
42. Kheirrolomoom A, Lai CY, Tam SM, Mahakian LM, Ingham ES, Watson KD, et al. Complete regression of local cancer using temperature-sensitive liposomes combined with ultrasound-mediated hyperthermia. *J Control Release.* 2013; 172(1):266-73.

43. Lee J, Chatterjee DK, Lee MH, Krishnan S. Gold nanoparticles in breast cancer treatment: Promise and potential pitfalls. *Cancer Lett.* 2014; 347(1):46-53.
44. You J, Zhang R, Zhang GD, Zhong M, Liu Y, Van Pelt CS, et al. Photothermal-chemotherapy with doxorubicin-loaded hollow gold nanospheres: A platform for near-infrared light-triggered drug release. *J Control Release.* 2012; 158(2):319-28.
45. Wilner SE, Wengerter B, Maier K, Magalhaes MDB, Del Amo DS, Pai S, et al. An RNA Alternative to Human Transferrin: A New Tool for Targeting Human Cells. *Mol Ther-Nucl Acids.* 2012; 1:14.
46. Sahoo SK, Labhasetwar V. Enhanced anti proliferative activity of transferrin-conjugated paclitaxel-loaded nanoparticles is mediated via sustained intracellular drug retention. *Mol Pharm.* 2005; 2(5):373-83.
47. Citartan M, Gopinath SCB, Tominaga J, Tan SC, Tang TH. Assays for aptamer-based platforms. *Biosens Bioelectron.* 2012; 34(1):1-11.
48. Patel NR, Pattni BS, Abouzeid AH, Torchilin VP. Nanopreparations to overcome multidrug resistance in cancer. *Adv Drug Deliv Rev.* 2013; 65(13-14):1748-62.
49. Deng ZJ, Morton SW, Ben-Akiva E, Dreaden EC, Shopsowitz KE, Hammond PT. Layer-by-Layer Nanoparticles for Systemic Codelivery of an Anticancer Drug and siRNA for Potential Triple-Negative Breast Cancer Treatment. *ACS Nano.* 2013; 7(11):9571-84.
50. Song XR, Cai Z, Zheng Y, He G, Cui FY, Gong DQ, et al. Reversion of multidrug resistance by co-encapsulation of vincristine and verapamil in PLGA nanoparticles. *Eur J Pharm Sci.* 2009; 37(3-4):300-5.
51. Hu ZY, Luo F, Pan YF, Hou C, Ren LF, Chen JJ, et al. Arg-Gly-Asp (RGD) peptide conjugated poly(lactic acid)-poly(ethylene oxide) micelle for targeted drug delivery. *J Biomed Mater Res Part A.* 2008; 85A(3):797-807.
52. Swenson CE, Perkins WR, Roberts P, Janoff AS. Liposome technology and the development of Myocet (TM) (liposomal doxorubicin citrate). *Breast.* 2001; 10:1-7.
53. Leonard RCF, Williams S, Tulpule A, Levine AM, Oliveros S. Improving the therapeutic index of anthracycline chemotherapy: Focus on liposomal doxorubicin (Myocet (TM)). *Breast.* 2009; 18(4):218-24.

54. Li C, Wallace S. Polymer-drug conjugates: Recent development in clinical oncology. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008; 60(8):886-98.
55. Awada A, Garcia AA, Chan S, Jerusalem GHM, Coleman RE, Huizing MT, et al. Two schedules of etirinotecan pegol (NKTR-102) in patients with previously treated metastatic breast cancer: a randomised phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2013; 14(12):1216-25.
56. Burris HA, Rugo HS, Vukelja SJ, Vogel CL, Borson RA, Limentani S, et al. Phase II Study of the Antibody Drug Conjugate Trastuzumab-DM1 for the Treatment of Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2)-Positive Breast Cancer After Prior HER2-Directed Therapy. *J Clin Oncol.* 2011; 29(4):398-405.
57. Oerlemans C, Bult W, Bos M, Storm G, Nijssen JFW, Hennink WE. Polymeric Micelles in Anticancer Therapy: Targeting, Imaging and Triggered Release. *Pharm Res.* 2010; 27(12):2569-89.
58. Lee KS, Chung HC, Im SA, Park YH, Kim CS, Kim SB, et al. Multicenter phase II trial of Genexol-PM, a Cremophor-free, polymeric micelle formulation of paclitaxel, in patients with metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008; 108(2):241-50.
59. Matsumura Y. Preclinical and clinical studies of NK012, an SN-38-incorporating polymeric micelles, which is designed based on EPR effect. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011; 63(3):184-92.
60. Lee SW, Yun MH, Jeong SW, In CH, Kim JY, Seo MH, et al. Development of docetaxel-loaded intravenous formulation, Nanoxel-PM (TM) using polymer-based delivery system. *J Control Release.* 2011; 155(2):262-71.
61. Viudez A, Ramirez N, Hernandez-Garcia I, Carvalho FL, Vera R, Hidalgo M. Nab-paclitaxel: A flattering facelift. *Crit Rev Oncol/Hematol.* 2014;92(3):166-80.
62. Fanciullino R, Ciccolini J, Milano G. Challenges, expectations and limits for nanoparticles-based therapeutics in cancer: A focus on nano-albumin-bound drugs. *Crit Rev Oncol/Hematol.* 2013; 88(3):504-13.

63. Lluch A, Alvarez I, Munoz M, Segui MA, Tusquets I, García-Estevez L. Treatment innovations for metastatic breast cancer: Nanoparticle albumin-bound (NAB) technology targeted to tumors. *Crit Rev Oncol/Hematol*. 2014; 89(1):62-72.
64. O'Shaughnessy J, Gradishar WJ, Bhar P, Iglesias J. nab-Paclitaxel for first-line treatment of patients with metastatic breast cancer and poor prognostic factors: a retrospective analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2013; 138(3):829-37.